

**PERBEDAAN EFEK TERAPI SALEP *Virgin Coconut Oil* (VCO) DENGAN GEL EKSTRAK PLASENTA TERHADAP LUKA BAKAR DERAJAT II B PADA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*)
DITINJAU DARI EKSPRESI
FGF-2 DAN JUMLAH
FIBROBLAS**

SKRIPSI

Oleh:
FATHUNNISA
145130101111020



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PERBEDAAN EFEK TERAPI SALEP *Virgin Coconut Oil* (VCO) DENGAN GEL EKSTRAK PLASENTA TERHADAP LUKA BAKAR DERAJAT II B PADA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*)
DITINJAU DARI EKSPRESI
FGF-2 DAN JUMLAH
FIBROBLAS**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

**FATHUNNISA
145130101111020**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PERBEDAAN EFEK TERAPI SALEP *Virgin Coconut Oil* (VCO) DENGAN GEL EKSTRAK PLASENTA TERHADAP LUKA BAKAR DERAJAT II B PADA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) DITINJAU DARI EKSPRESI FGF-2 DAN JUMLAH FIBROBLAS

Oleh :

FATHUNNISA

145130101111020

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal

dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Sri Murwani, drh., MP.
NIP. 19630101 198903 2 001

drh. Ajeng Erika PH, M. Si
NIP. 19890516 201504 2 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Fathunnisa
NIM : 145130101111020
Program Studi : Kedokteran Hewan
Penulis Skripsi berjudul :
PERBEDAAN EFEK TERAPI SALEP *Virgin Coconut Oil* (VCO)
DENGAN GEL EKSTRAK PLASENTA TERHADAP LUKA BAKAR
DERAJAT II B PADA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) DITINJAU
DARI EKSPRESI FGF-2 DAN JUMLAH FIBROBLAS

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang tercantum di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 31 Juli 2018
Yang menyatakan,

Fathunnisa
NIM. 145130101111020

**PERBEDAAN EFEK TERAPI SALEP *Virgin Coconut Oil* (VCO) DENGAN
GEL EKSTRAK PLASENTA TERHADAP LUKA BAKAR DERAJAT
II B PADA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) DITINJAU DARI
EKSPRESI FGF-2 DAN JUMLAH FIBROBLAS**

ABSTRAK

Luka bakar merupakan suatu kondisi trauma, dimana kulit mengalami kerusakan atau kehilangan jaringan secara lokal maupun sistemik. Pengobatan luka bakar secara umum dapat diobati dengan pemberian gel ekstrak plasenta karena mampu mempercepat reepitelisasi. Beberapa kejadian luka bakar menunjukkan bahwa kandungan VCO, seperti *tokoferol, phytosterol, flavonoid* dan asam laurat dapat digunakan sebagai terapi luka bakar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan efek terapi salep VCO dengan gel ekstrak plasenta, dalam penyembuhan luka bakar derajat II B dilihat dari peningkatan ekspresi FGF-2 dan jumlah fibroblas. Kondisi luka bakar derajat II B dibuat pada area *flank* dengan meletakkan *solder* yang telah dimodifikasi dengan plat besi berukuran 2x2 selama 10 detik. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan, strain *Wistar*, umur 75-90 hari, dengan berat 150-200 gram. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan *post test only two group experimental design*, dibagi dalam 2 kelompok perlakuan masing-masing 9 ekor. Kelompok 1 diberi terapi salep VCO, sedangkan kelompok 2 diberi terapi gel ekstrak plasenta. Terapi diberikan sebanyak 2 kali sehari, selama 7 hari. Perhitungan ekspresi FGF-2 dilakukan dengan membuat preparat histopatologi pewarnaan Imunohistokimia, kemudian diolah menggunakan software *Immunoratio*. Jumlah fibroblas diamati dengan membuat preparat histopatologi pewarnaan Hematoksilin eosin. Analisa data dilakukan secara kuantitatif menggunakan uji t. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) antara kelompok terapi salep VCO dan kelompok terapi gel ekstrak plasenta pada kasus luka bakar derajat II B. Kesimpulan dari penelitian ini ialah terapi salep VCO pada luka bakar derajat II B tidak memberikan perbedaan efek dengan gel ekstrak plasenta.

Kata kunci : Luka bakar, VCO, Ekstrak plasenta, Ekspresi FGF-2, Jumlah fibroblas

**THE THERAPY EFFECT DIFFERENCES OF *Virgin Coconut Oil* (VCO)
OINTMENT WITH PLACENTA EXTRACT GEL ON II B DEGREE
BURNS IN WHITE RATS (*RATTUS NOVERGICUS*)
REVIEWED BY FGF-2 EXPRESSION AND
THE AMOUNT OF FIBROBLAST**

ABSTRACT

Burn is a trauma condition, in which skin is damaged or lost its tissue locally or systemically. The treatment of burns usually involve giving topical dosage form of placenta extract gel because it can speed up the process of re-epithelization. Several incidents of burns showed that the VCO contents, like tocopherol, phytosterol, flavonoid and lauric acid could be used to treat burns. The purpose of this study was to find out the effect differences of VCO ointment therapy and placenta extract gel therapy in treating II B degree burns reviewed by the increase of FGF-2 expression and the amount of fibroblast. II B degree burn condition was made in flank area by placing a solder that has been modified with 2x2 iron plat for 10 seconds. The model animals that were being used consisted of male white Wistar rats (*Rattus novergicus*) age between 75-90 days and weigh around 150-200 gram. This study was experimental using post-test only two group experimental design, and the rats were divided into two groups consisted of nine rats in each group. Group 1 consisted of rats with burns that was given the VCO as the therapy, while the group 2 consisted of rats with burns that was given placenta extract gel as the therapy. Therapy was given twice a day, for seven days. The measurement of FGF-2 expression was conducted by immunohistochemistry method, and then processed using immunoratio software. The amount of fibroblast was observed through Hematoxylen-Eosin (HE) staining. The data was analyzed quantitatively using t-test to see the effect differences between two treatments. The result of this study showed that there were not any significant difference ($p>0,05$) between VCO ointment therapy group and placenta extract gel therapy group in treating II B degree burn cases, which indicates the VCO ointment therapy did not have a different effect with the placenta ekstrak gel therapy in treating II B degree burns.

Key Words: Burn, VCO, Placenta extract, FGF-2 expression, Fibroblast amount

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga Proposal Skripsi yang berjudul “Perbedaan Efek Terapi Salep *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan Gel Ekstrak Plasenta terhadap Luka Bakar Derajat II B Pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) ditinjau dari Ekspresi FGF-2 dan Jumlah Fibroblas” ini dapat diselesaikan dengan baik. Dalam penyelesaian penyusunan proposal skripsi ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Sri Murwani, drh., MP., selaku Dosen Pembimbing Skripsi I atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu yang diberikan tiada henti kepada penulis.
2. drh. Ajeng Erika PH, M. Si., selaku Dosen Pembimbing Skripsi II atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu yang diberikan tiada henti kepada penulis.
3. drh. Aldila Noviatry, M. Biomed., sebagai penguji I atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, dan arahan kepada penulis.
4. drh. Fidi Nur Aini EPD, M. Si., sebagai penguji II atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, dan arahan kepada penulis.
5. Ayahanda Burhan, Ibunda Hazizah, Kakak Maghfirah, Adik Rezaldi serta keluarga besar penulis yang tiada henti memberikan kasih sayang, doa, dan dukungan hingga sejauh ini, baik secara moril maupun materil.
6. VCO Squad Anisa Fitria Nur Rahma, Rizal Pandu, Flora Wahyu, dan M. Novrizal yang selalu berbagi suka maupun duka dalam melakukan penelitian dan memberikan dukungan tiada henti kepada penulis.
7. Neneng, Dian, Anggi, Putri, Ferry, Wira, Agus, dan Nurin sebagai sahabat yang selalu memberikan semangat dan doa kepada penulis.
8. Tifa, Intan, Kim, Kia, Hanun, Rully, Desy, Tina, Revi, Nofi, Meta, dan Mitra sebagai teman kos yang selalu setia menemani, berbagi canda

- dan tawa, suka maupun duka, serta memberikan bantuan dan dorongan semangat tiada henti kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Seluruh teman seperjuangan angkatan 2014 “Avengers” yang telah memberikan perhatian, bantuan, dan motivasi kepada penulis.
 10. Seluruh staff Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (FK UB) Malang yang telah membantu pelaksanaan penelitian.
 11. Seluruh staff dan karyawan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB) Malang, yang telah membantu proses administrasi dalam menyelesaikan skripsi.
 12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan skripsi ini, yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa proposal ini masih jauh dari kesempurnaan dengan segala kekurangan sehingga penulis mengharapkan ada kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan proposal skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT merahmati kita semua dan proposal skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan bagi penulis serta pembaca.

Malang, 31 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

COVER	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Luka Bakar	8
2.1.1 Definisi Luka Bakar.....	8
2.1.2 Etiologi.....	8
2.1.3 Klasifikasi	10
2.1.4 Patofisiologi.....	13
2.1.5 Penanganan Luka Bakar	15
2.2 Kulit.....	18
2.3 Kesembuhan Luka.....	23
2.4 Gel Ekstrak Plasenta.....	27
2.5 <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO).....	29
2.5.1 Kandungan <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO).....	29
2.6 <i>Fibroblast Growth Factor-2</i> (FGF-2)	31
2.7 Fibroblas.....	33
2.8 Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>).....	34

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN.....	37
3.1 Kerangka Konsep	37
3.2 Hipotesa Penelitian.....	40
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	42
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	42
4.2 Sampel Penelitian	42
4.3 Alat dan Bahan Penelitian	43
4.3.1 Alat Penelitian.....	43
4.3.2 Bahan Penelitian	43
4.4 Rancangan Penelitian	44
4.5 Variabel Penelitian	44
4.6 Tahapan Penelitian	45
4.6.1 Persiapan Hewan Coba	45
4.6.2 Pembuatan Luka Bakar Derajat II B	46
4.6.3 Pemberian Gel Ekstrak Plasenta	46
4.6.4 Pemberian Terapi Salep <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO)	47
4.6.5 Pengambilan Lesi dan Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit.....	47
4.6.6 Ekspresi <i>Fibroblast Growth Factor-2</i> (FGF-2) dengan Pewarnaan Imunohistokimia (IHK)	49
4.6.7 Jumlah Fibroblas dengan Pewarnaan <i>Hematoxilin Eosin</i> (HE)	49
4.6.8 Cara Pengamatan	51
4.6.9 Analisa Data.....	52
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	53
5.1 Gambaran Makroskopis Hasil Pembuatan Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Putih (<i>Rattus Novergicus</i>)	53
5.1.1 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B Setelah Terapi Salep VCO dan Gel Ekstrak Plasenta Pada Hari Ke-3	55
5.1.2 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B Setelah Terapi Salep VCO dan Gel Ekstrak Plasenta Pada Hari Ke-5	57
5.1.3 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B Setelah Terapi Salep VCO dan Gel Ekstrak Plasenta Pada Hari Ke-7	59
5.2 Perbedaan Efek Terapi Salep VCO dan Gel Ekstrak Plasenta terhadap Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Putih (<i>Rattus Novergicus</i>) ditinjau dari Ekspresi FGF-2	59

5.3	Perbedaan Efek Terapi Salep VCO dan Gel Ekstrak Plasenta terhadap Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Putih (<i>Rattus Novergicus</i>) ditinjau dari Jumlah Fibroblas	66
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....		73
DAFTAR PUSTAKA		74
LAMPIRAN.....		78



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Perbedaan Fibroblas dan Fibrosit	33
5.1 Rata-rata Ekspresi FGF-2.....	64
5.2 Rata-rata Jumlah Fibroblas.....	70



DAFTAR GAMBAR

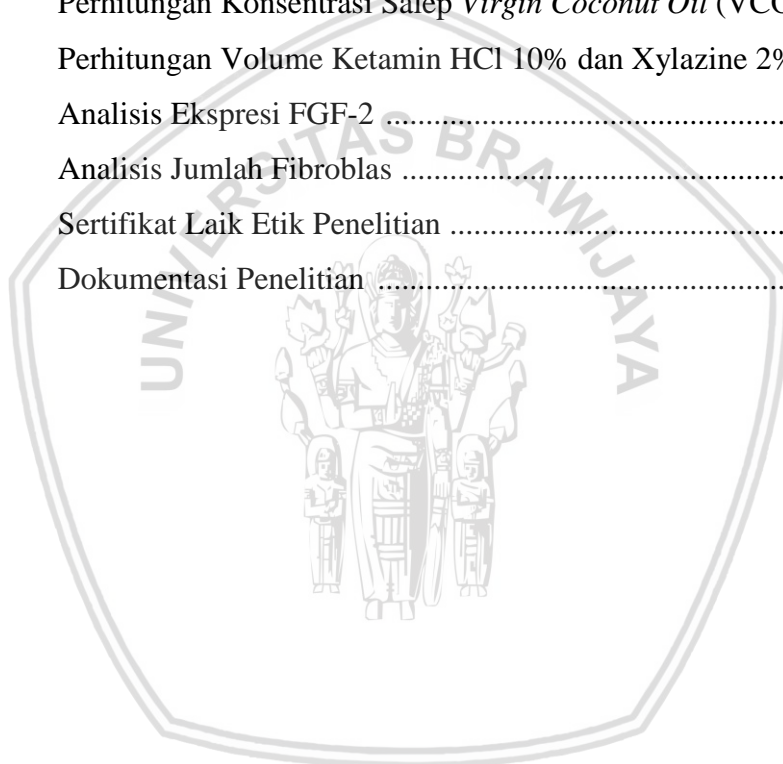
Gambar	Halaman
2.1. Luka Bakar Derajat I	11
2.2. Luka Bakar Derajat II	12
2.3. Luka Bakar Derajat III.....	13
2.4 Jackson's Burn Model	15
2.5. Lapisan-Lapisan dan Apendiks Kulit	22
2.6. Fibroblas dan Fibrosit	33
2.7. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	35
5.1 Gambaran makroskopis kulit setelah pembuatan luka bakar derajat II B	54
5.2 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B yang Diterapi Salep VCO pada Hari Ke-3	55
5.3 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B yang Diterapi Gel Ekstrak Plasenta pada Hari Ke-3	55
5.4 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B yang Diterapi Salep VCO pada Hari Ke-5	57
5.5 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B yang Diterapi Gel Ekstrak Plasenta pada Hari Ke-5	57
5.6 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B yang Diterapi Salep VCO pada Hari Ke-7	58
5.7 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B yang Diterapi Gel Ekstrak Plasenta pada Hari Ke-7	59
5.8 Ekspresi FGF-2 pada Kelompok Perlakuan Perlakuan Salep VCO dengan Perbesaran 40x, 100x dan 400x Menggunakan Metode Imunohistokimia	61
5.9 Ekspresi FGF-2 pada Kelompok Perlakuan Gel Ekstrak Plasenta dengan Perbesaran 40x, 100x dan 400x Menggunakan Metode Imunohistokimia	62

- 5.10 Gambaran histopatologi fibroblas pada Kelompok Perlakuan Salep VCO dengan perbesaran 40x, 100x dan 400x menggunakan pewarnaan Hematoksilin eosin67
- 5.11 Gambaran histopatologi fibroblas pada Kelompok Perlakuan Gel Ekstrak Plasenta dengan perbesaran 40x, 100x dan 400x menggunakan pewarnaan Hematoksilin eosin68



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional Penelitian	78
2. Pembuatan Histopatologi Jaringan Kulit	79
3. Metode Immunohistokimia (IHK) untuk Ekspresi <i>Fibroblast Growth Factor</i> (FGF-2)	81
4. Perhitungan Konsentrasi Salep <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO).....	82
5. Perhitungan Volume Ketamin HCl 10% dan Xylazine 2%	83
6. Analisis Ekspresi FGF-2	84
7. Analisis Jumlah Fibroblas	85
8. Sertifikat Laik Etik Penelitian	86
9. Dokumentasi Penelitian	87



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

%	persen
±	plus-minus
°C	derajat celcius
µm	mikrometer
BB	berat badan
Mg/kgBB	milligram per kilogram berat badan
bFGF	<i>basic fibroblast growth factor</i>
FGF-2	<i>fibroblast growth factor-2</i>
ADP	<i>adenosin diphosphate</i>
PMN	<i>polimorfonuklear</i>
PDGF	<i>platelet-derivate growth factor</i>
ROS	<i>reactive oxygen space</i>
EGF	<i>epidermal growth factor</i>
TNF-α	<i>tumor necrosis factor alfa</i>
TGF-α	<i>transforming growth factor alfa</i>
TGF β	<i>transforming growth factor beta</i>
IHK	imunohistokimia
HE	hematoksilin eosin
kg	kilogram
mg	miligram
PBS	<i>phosphate-buffered saline</i>
VCO	<i>virgin coconut oil</i>
NaCl	natrium klorida
pH	power of hydrogen
BSA	<i>bovine serumem albumin</i>
SA-HRP	<i>strep avian horse radish peroxidase</i>
DAB	<i>diaminobenzidine tetrahydrochloride</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar merupakan suatu kondisi dimana kulit mengalami kerusakan atau kehilangan jaringan akibat ada kontak langsung terhadap sumber panas, seperti api, air panas, bahan kimia, listrik dan radiasi (Silalahi *and* Surbakti, 2015). Berdasarkan kedalaman derajat keparahan luka bakar dapat dibedakan menjadi 3, yaitu luka bakar derajat I (*superfisial*), derajat II (*partial thickness*), dan derajat III (*full thickness*). Selain itu, untuk luka bakar derajat II dapat dibedakan lagi menjadi 2, yaitu luka bakar derajat II A (*superficial partial thickness*) dan derajat II B (*deep partial thickness*) (Noer, 2006). Luka bakar memiliki potensi untuk merusak kulit dan jaringan lain, seperti arteri, vena, tendon, dan osteo, sehingga hal tersebut akan meningkatkan resiko terjadi infeksi (Sutrisno dkk., 2016). Secara histologi, luka bakar derajat II B (*deep partial thickness*) ditandai dengan kerusakan kulit hampir ke seluruh lapisan dermis dan hanya menyisakan sedikit jaringan epitel. Oleh karena itu, dibutuhkan waktu yang lebih lama untuk menyembuhkan luka bakar dengan derajat keparahan tersebut (Noer, 2006).

Penyembuhan luka bakar merupakan suatu usaha untuk memperbaiki kerusakan jaringan yang diawali dengan kemunculan makrofag dan neutrofil. Makrofag dan neutrofil berperan sebagai agen fagositosis, hanya saja makrofag memiliki peran lain, yaitu memproduksi berbagai sitokin dan *growth factor* salah satu, seperti FGF-2. *Basic Fibroblast Growth Factor*

(bFGF) atau disebut juga FGF-2 adalah salah satu prototipe FGF yang memiliki pengaruh amat besar terhadap perkembangan jaringan granulasi, meningkatkan angiogenesis pada daerah luka, dan berperan dalam proliferasi fibroblas (Putri dan Tasminatun, 2012). Fibroblas dan epitel memiliki peranan penting dalam proses kesembuhan luka. Proses reepitelisasi akan terjadi lebih dulu untuk menutupi jaringan luka, sehingga mencegah terjadi infeksi, sedangkan fibroblas akan merangsang terbentuk kolagen, sehingga memperkuat jaringan luka. Ekspresi FGF-2 yang kurang dapat menghambat proses kesembuhan luka (Grazul *et al.* 2003).

Penyembuhan luka bakar harus dilakukan sesegera mungkin untuk mencegah kontaminasi bakteri yang dapat menimbulkan infeksi pada daerah luka. Gel ekstrak plasenta merupakan salah satu obat topikal standar, yang digunakan untuk mengobati luka bakar. Gel ekstrak plasenta tersedia dalam bentuk gel yang memiliki kandungan ekstra plasenta 10% dan neomisin sulfat 0,5% (MIMS, 2016). Kedua kandungan tersebut baik ekstra plasenta 10% maupun neomisin sulfat 0,5% berperan penting dalam mempercepat proses kesembuhan luka karena memiliki kandungan air yang cukup tinggi sehingga dapat bekerja secara optimal dan memberikan rasa sejuk serta nyaman pada kulit yang mengalami cedera. Ekstrak plasenta 10% bekerja dengan cara mempercepat regenerasi sel melalui peningkatan kadar VEGF dan merangsang sirkulasi darah pada area luka. Ekstrak plasenta juga kaya akan bahan pembentuk kolagen sehingga mampu mencegah penuaan, dan meremajakan kulit (Cho *et al.*, 2008)

Neomisin sulfat 0,5% adalah antibiotik golongan aminoglikosida yang berbeda dengan obat aminoglikosida lain karena hanya dapat digunakan secara topikal pada kulit dan oral untuk dekontaminasi bakteri (Wientarsih dkk., 2017; Padua *et al.*, 2005). Neomisin sulfat 0,5% bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri melalui ikatan ribosom subunit 30s untuk mencegah terjadi infeksi bakteri pada daerah luka (Wientarsih dkk., 2017). Penelitian ini dilakukan guna menemukan obat alami yang dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk mengobati luka bakar sehingga obat tersebut dapat dijangkau dan digunakan oleh berbagai kalangan masyarakat. Salah satu bahan alami yang memiliki khasiat sebagai antiinflamasi, antioksidan, dan antibakteri adalah VCO (Silalahi *and* Surbakti, 2015).

Penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa konsentrasi VCO 70% memberikan aktivitas penyembuhan paling baik terhadap luka bakar dibanding konsentrasi VCO 0% dan 35%. *Virgin Coconut Oil* (VCO) 70% diketahui memiliki kandungan asam lemak dan monogliserida bebas lebih tinggi dan berperan sebagai antibakteri (Silalahi *and* Surbakti, 2015). *Virgin Coconut Oil* (VCO) mengandung 92% asam lemak jenuh yang terdiri dari 48-53% asam laurat, 1,5-2,5% asam oleat, 8% asam kaprilat dan 7% asam kaprat (Lucida *et al.*, 2008). *Virgin Coconut Oil* (VCO) memiliki kandungan fitosterol, dan tokoferol berperan sebagai antiinflamasi, asam laurat dan monolaurin sebagai antibakteri dan antiviral, dengan cara merusak struktur *lipid bilayer* virus dan membran sel bakteri (Silalahi *and* Surbakti, 2015).

Virgin Coconut Oil (VCO) juga mengandung flavonoid untuk mencegah infeksi dan kerusakan sel yang berlebihan (Tamara dkk. 2014).

Berdasarkan uraian dan pemikiran di atas, dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui perbedaan respon terapi antara salep VCO dan gel ekstrak plasenta terhadap luka bakar derajat II B pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) ditinjau dari ekspresi FGF-2 dan jumlah fibroblas.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat perbedaan efek terapi antara salep VCO dan gel ekstra plasenta ditinjau dari ekspresi FGF-2 pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai penyembuhan luka bakar derajat II B?
2. Apakah terdapat perbedaan efek terapi antara salep VCO dan gel ekstra plasenta ditinjau dari jumlah fibroblas pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai penyembuhan luka bakar derajat II B?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka didapatkan batasan masalah sebagai berikut:

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, strain *Wistar*, umur 75-90 hari, dengan berat 150-200 gram (Negara, dkk., 2014). Tikus diperoleh dari Laboratorium Farmakologi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (FK UB) Malang dan telah mendapatkan persetujuan Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan No. 867-KEP-UB.

2. Luka bakar derajat II B dibuat pada area *flank* yang terletak diantara os costae terakhir dan os ilium dengan meletakkan *solder* yang telah dimodifikasi dengan plat besi berukuran 2x2 dan dipanaskan selama 5 menit hingga mencapai suhu 100-150°C pada daerah *flank* tikus selama 10 detik (Akbari, *et al.* 2015; Abdeldjeil, 2017). Luka bakar derajat II ditandai dengan ada warna kemerahan dan terbentuk bula (gelembung air) pada kulit tikus (Simanjuntak, 2008).
3. Penelitian ini menggunakan VCO yang tersedia di pasaran dimana utamanya memiliki kandungan asam lemak dan monogliserida yang optimal.
4. Perlakuan pertama (P1) diberikan terapi salep VCO 70% dibuat dalam sediaan salep dengan penambahan basis salep, yaitu adeps lanae (Silalahi and Surbakti, 2015). Terapi diberikan pada hari pertama hingga ketujuh, secara topikal dengan mengoleskan sediaan salep pada area luka (Balqis, dkk., 2014). Banyaknya salep yang dioleskan disesuaikan dengan luas luka (Yanhendri dan Yenny, 2012).
5. Perlakuan kedua (P2) diberikan terapi gel ekstrak plasenta yang tersedia di pasaran, dimana mengandung kombinasi ekstrak plasenta 10% dan neomisin sulfat 0,5%. Salep diberikan pada hari pertama hingga ketujuh, secara topikal dengan mengoleskan sediaan gel pada area luka (Balqis,

dkk., 2014). Banyaknya gel yang dioleskan disesuaikan dengan luas luka (Yanhendri dan Yenny, 2012).

6. Ekspresi FGF-2 diamati melalui pewarnaan IHK, kemudian diproses menggunakan software *Immunoratio* (Warzecha, *et al.* 2004).
7. Jumlah fibroblas diamati melalui pewarnaan HE (Nurdiana, dkk., 2016).

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka didapatkan tujuan penelitian sebagai berikut:

1. Mengetahui perbedaan efek terapi antara salep VCO dan gel ekstra plasenta ditinjau dari ekspresi FGF-2 pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai penyembuhan luka bakar derajat II B
2. Mengetahui perbedaan efek terapi antara salep VCO dan gel ekstra plasenta ditinjau dari jumlah fibroblas pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai penyembuhan luka bakar derajat II B

1.5 Manfaat Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka didapatkan manfaat penelitian sebagai berikut:

1. Menjadi dasar bagi penelitian selanjutnya untuk mengembangkan pemanfaatan VCO sebagai obat alternatif penyembuhan luka bakar derajat II B selain gel ekstrak plasenta

2. Memaksimalkan pemanfaatan sumber daya alam dalam pengembangan kelestarian lingkungan



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka Bakar

2.1.1 Definisi Luka Bakar

Luka bakar merupakan suatu kondisi dimana kulit mengalami kerusakan atau kehilangan jaringan akibat ada kontak langsung terhadap sumber panas, seperti api, air panas, bahan kimia, listrik dan radiasi (Silalahi *and* Surbakti, 2015). Kontak langsung terhadap sumber panas memicu terjadi kerusakan kapiler dan peningkatan vaskuler. Luka bakar memiliki potensi untuk merusak kulit dan jaringan lain, seperti arteri, vena, tendon, dan osteo sehingga hal tersebut akan meningkatkan resiko terjadi infeksi (Sutrisno, dkk., 2016).

2.1.2 Etiologi

Menurut Yapa *and* Enoch (2009), adapun penyebab terjadinya luka bakar antara lain :

a. Suhu tinggi

Luka bakar karena suhu tinggi dapat disebabkan oleh kobaran api, air panas, kontak dengan sumber panas seperti setrika dimana dapat menimbulkan luka bakar *full-thickness*, dan jilatan api yang bersumber dari bahan yang mudah menguap, dimana dapat menimbulkan *superficial flame burn* pada wajah, leher serta tungkai atas. Luka bakar yang disebabkan oleh suhu tinggi dapat menimbulkan efek lain, seperti trauma pada saluran respirasi (Yapa *and* Enoch, 2009).

b. Sengatan listrik

Luka bakar akibat sengatan listrik dapat terjadi akibat terkena petir, listrik bertegangan tinggi maupun listrik bertegangan rendah. Kontak dengan listrik bertegangan tinggi dapat meninggalkan eskar sehingga menimbulkan kerusakan jaringan yang ekstensif (Theddeus, 2016). Kerusakan yang timbul akibat sengatan listrik bergantung pada besar kecilnya tegangan volt. Luka bakar yang disebabkan oleh sengatan listrik ini dapat menimbulkan kerusakan pada jantung, terutama aritmia (detak jantung menjadi tidak teratur). Luka bakar karena sengatan listrik disebabkan oleh arus rendah maupun arus tinggi. Luka bakar yang disebabkan oleh arus rendah, bersumber dari listrik bertegangan <240 volt, dimana menimbulkan luka bakar kecil pada daerah ekstremitas. Pada luka bakar tersebut perlu dilakukan monitoring setelah 24 jam pasca sengatan serta lakukan EKG. Luka bakar yang disebabkan arus tinggi, bersumber dari listrik bertegangan >1000 volt, dimana menimbulkan kerusakan sistemik. Pada luka bakar tersebut, perlu dilakukan monitoring terhadap jantung, ginjal dan otot rangka (Yapa and Enoch, 2009).

c. Bahan kimia

Luka bakar karena bahan kimia dapat disebabkan oleh bahan yang bersifat asam, basa maupun bahan organik. Kontak langsung terhadap bahan kimia harus segera diirigasi karena bahan tersebut dapat menembus jaringan cukup dalam (Theddeus, 2016). Luka bakar yang disebabkan oleh bahan yang bersifat asam akan terasa sakit. Berbeda dengan luka bakar yang disebabkan oleh bahan yang bersifat basa, dimana memiliki *onset of pain* yang tertunda (Yapa and

Enoch, 2009). Meskipun demikian, luka bakar yang disebabkan oleh bahan kimia yang bersifat basa dapat menimbulkan kerusakan jaringan yang lebih parah (Theddeus, 2016).

2.1.3 Klasifikasi

Menurut Moenadjat (2003), luka bakar dapat diklasifikasikan berdasarkan penyebab dan kedalaman kerusakan jaringan yang ditimbulkan, antara lain:

a. Menurut Moenadjat (2003); Nugroho (2012), berdasarkan penyebabnya luka bakar dapat diklasifikasikan menjadi beberapa jenis, yaitu:

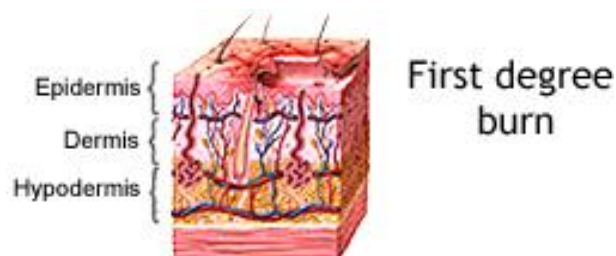
1. Luka bakar karena api
2. Luka bakar karena air panas
3. Luka bakar karena bahan kimia
4. Luka bakar karena listrik dan petir
5. Luka bakar karena radiasi
6. Luka bakar karena suhu sangat rendah
7. Sengatan matahari

b. Berdasarkan kedalaman kerusakan jaringan luka bakar dapat diklasifikasikan menjadi beberapa derajat, yaitu:

1. Luka bakar derajat I

Luka bakar derajat I disebut juga sebagai luka bakar superfisial, hal ini dikarenakan jaringan kulit yang rusak hanya terjadi pada bagian superfisial epidermis (**Gambar 2.1**) (Noer, 2006). Luka bakar superfisial ditandai dengan hiperemik yang memberikan efloresensi berupa eritema. Selain itu,

kulit menjadi kering, nyeri karena ujung-ujung saraf sensorik mengalami iritasi dan tidak ada bula (Moenadjat, 2003).



Gambar 2.1 Luka Bakar Derajat I (Nurgoho, 2012).

2. Luka bakar derajat II

Jaringan kulit yang rusak pada luka bakar derajat II meliputi epidermis dan sebagian dermis ditandai dengan reaksi inflamasi akut disertai proses eksudasi, bagian dasar luka berwarna merah atau pucat, sering terletak lebih tinggi di atas permukaan kulit normal, nyeri karena ujung-ujung saraf sensorik mengalami iritasi dan ada bula (**Gambar 2.2**). Menurut Moenadjat (2003), luka bakar derajat II dibagi menjadi 2 antara lain:

a. Derajat II dangkal (*superficial*)

Luka bakar ini dikenal juga dengan sebutan luka bakar derajat II-A (*superficial partial thickness*) (Noer, 2006). Jaringan kulit yang rusak mengenai bagian superfisial dari dermis sehingga apendises kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat dan kelenjar sebacea masih utuh. Kesembuhan luka bakar derajat II-A dapat terjadi secara spontan dalam waktu 10 hingga 14 hari (Moenadjat, 2003).

b. Derajat II dalam (*deep*)

Luka bakar ini dikenal juga dengan sebutan luka bakar derajat II-B (*deep partial thickness*) (Noer, 2006). Secara histologi, luka bakar derajat II B ditandai dengan kulit yang rusak hampir ke seluruh lapisan dermis dan hanya menyisakan sedikit jaringan epitel, sehingga sebagian appendises kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat dan kelenjar sebacea sebagian masih utuh (Noer, 2006; Moenadjat, 2003). Kesembuhan luka bakar derajat II B bergantung pada appendises kulit yang tersisa sehingga semakin besar appendises kulit yang hilang maka kesembuhan luka akan lebih lama. Kesembuhan luka dapat terjadi dalam waktu lebih dari satu bulan (Moenadjat, 2003).

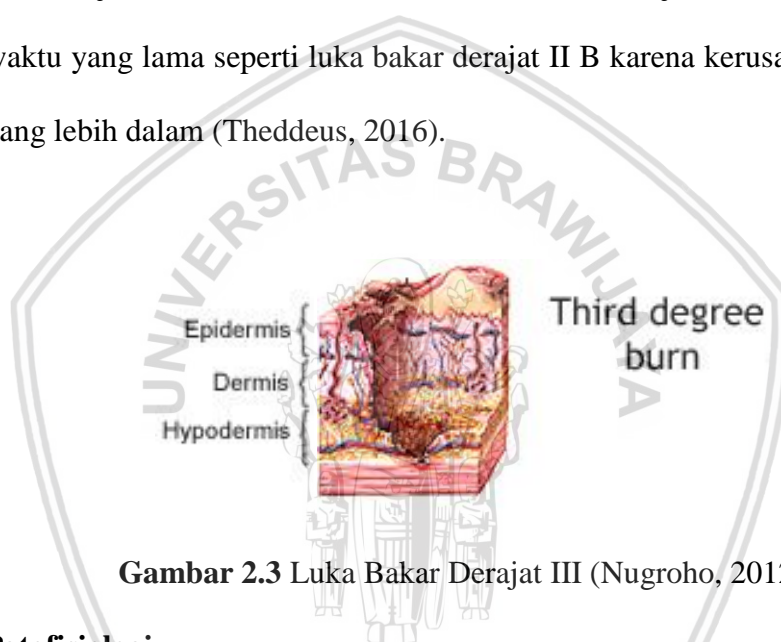


Gambar 2.2 Luka Bakar Derajat II (Nugroho, 2012).

3. Luka bakar derajat III

Luka bakar derajat III disebut juga sebagai luka bakar *full thickness* sehingga melibatkan seluruh lapisan kulit seperti epidermis, dermis, jaringan lemak, *fascia*, bahkan tulang (**Gambar 2.3**) (Dealey and Cameron, 2008; Kartika, 2015). Luka bakar derajat III meliputi seluruh bagian dermis hingga ke lapisan yang lebih dalam, sehingga appendis kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, dan kelenjar sebacea mengalami

kerusakan. Kulit yang terbakar menjadi kering, mengalami perubahan warna menjadi abu-abu dan pucat, sering terletak lebih rendah dibandingkan kulit sekitar akibat koagulasi protein pada lapisan epidermis dan dermis yang dikenal dengan sebutan eskar. Selain itu, tidak dijumpai rasa nyeri karena ujung-ujung saraf sensorik mengalami kerusakan (Moenadjat, 2003). Kesembuhan luka bakar derajat III membutuhkan waktu yang lama seperti luka bakar derajat II B karena kerusakan jaringan yang lebih dalam (Theddeus, 2016).



Gambar 2.3 Luka Bakar Derajat III (Nugroho, 2012).

2.1.4 Patofisiologi

Menurut Majid dan Prayogi (2013), patofisiologi luka bakar dibagi menjadi tiga fase, antara lain:

1. Fase akut

Fase akut merupakan fase awal atau disebut juga sebagai fase syok pada luka bakar. Fase akut akan menimbulkan gangguan pada jalan napas, mekanisme bernafas dan sirkulasi. Selain itu, gangguan keseimbangan cairan dan elektrolit juga sering terjadi akibat cedera karena kontak langsung terhadap sumber panas berdampak pada kerusakan sistemik (Majid dan Prayogi, 2013).

2. Fase subakut

Fase subakut merupakan fase kedua yang terjadi setelah fase akut terlewati. Fase akut akan menimbulkan kerusakan atau kehilangan jaringan akibat kontak langsung dengan sumber panas. Luka yang terjadi akan menimbulkan inflamasi dan infeksi, serta masalah penutupan luka khusus pada luka terbuka (Majid dan Prayogi, 2013).

3. Fase lanjut

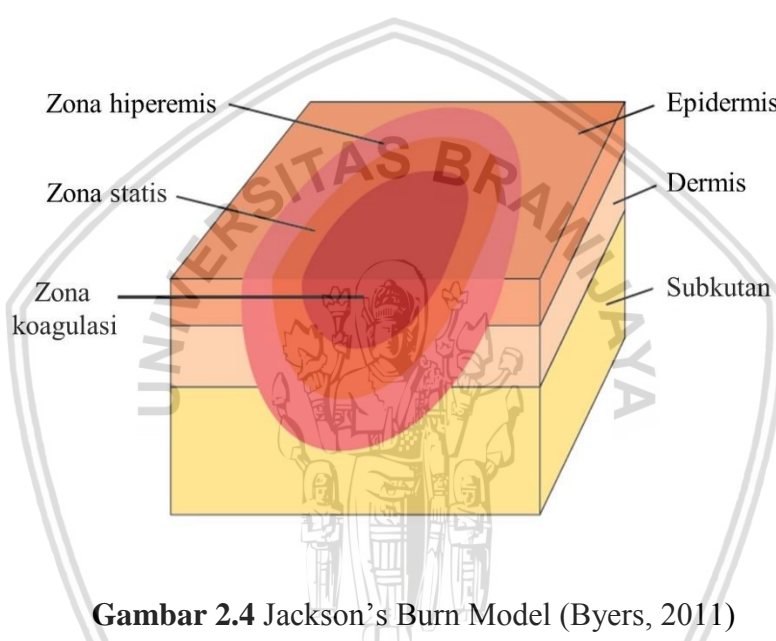
Fase lanjut merupakan fase terakhir yang terjadi hingga terbentuk jaringan parut akibat luka dan pemulihan organ-organ fungsional. Fase lanjut akan membentuk jaringan parut yang hipertropik, keloid, gangguan pigmentasi deformitas dan kontraktur (Majid dan Prayogi, 2013).

Kontak antara kulit dan sumber panas direspon tubuh dengan mempertahankan homeostatis melalui adanya proses kontraksi, retraksi dan koagulasi pembuluh darah. Terdapat 3 zona respon lokal akibat luka bakar berdasarkan *Jackson's Burn Model* (**Gambar 2.4**), yaitu:

- a. Zona koagulasi merupakan daerah luka yang berada dibagian tengah luka bakar dan mengalami kontak langsung dengan sumber panas. Zona koagulasi, terdiri dari jaringan nekrosis yang membentuk keropeng akibat adanya denaturasi protein pada lapisan kulit (Hettiaratchy and Dziewulski, 2004).
- b. Zona statis merupakan daerah luka yang langsung berada diluar zona koagulasi. Zona statis terbentuk akibat adanya kerusakan endotel disertai kerusakan trombosit dan leukosit serta perubahan permeabilitas kapiler dan

respon inflamasi lokal yang beresiko pada iskemia jaringan (Hettiaratchy and Dziewulski, 2004).

- c. Zona hiperemis merupakan daerah yang terdiri dari kulit normal dengan cedera sel yang ringan. Zona hiperemis mengalami reaksi berupa vasodilatasi serta peningkatan sirkulasi (Hettiaratchy and Dziewulski, 2004).



Gambar 2.4 Jackson's Burn Model (Byers, 2011)

2.1.5 Penanganan Luka Bakar

Menurut Theddeus (2016), penanganan luka bakar dapat dilakukan melalui empat langkah, yaitu menghentikan proses pembakaran, mendinginkan area luka bakar, beri analgesik, dan tutup area luka. Adapun penjelasan dari masing-masing penanganan tersebut antara lain:

1. Menghentikan Proses Pembakaran

Proses pembakaran dapat dihentikan dengan cara melihat penyebabnya. Luka bakar yang disebabkan oleh sengatan listrik ddihentikan dengan cara mencabut

sumber listriknya. Luka bakar yang disebabkan oleh bahan kimia dihentikan dengan cara mengirigasi area luka dengan air mengalir bersuhu 15°C selama 20 menit, hal ini dapat membantu mendinginkan luka sekaligus mengurangi rasa nyeri yang mungkin timbul (Theddeus, 2016).

2. Mendinginkan Area Luka Bakar

Pendinginan area luka bakar atau biasa disebut *Cooling* merupakan tindakan yang dilakukan untuk mendinginkan daerah kulit yang mengalami luka bakar dengan menggunakan air mengalir bersuhu 15°C selama 20 menit. Penanganan ini berfungsi untuk menghilangkan rasa nyeri dan memberikan rasa sejuk pada daerah luka (Theddeus, 2016; Majid dan Prayogi, 2013). Tindakan *cooling* juga sering dilakukan pada pembuatan luka bakar dengan tujuan agar luka yang dibuat tidak meluas dan memperparah luka bakar yang terjadi (Negara, dkk., 2014). Selain menggunakan air mengalir, *cooling* dapat dilakukan dengan menggunakan aquades, tetapi penggunaan air es tidak disarankan karena hal tersebut dapat menimbulkan vasokonstriksi sehingga memperparah luka dan berisiko hipotermia (Majid dan Prayogi, 2013).

3. Memberikan Analgesi

Pemberian analgesi atau yang biasa disebut *chemoprophylaxis* merupakan tindakan yang biasanya dilakukan pada luka bakar derajat A berupa pemberian obat anti tetanus. Krim SSD (*Silver sulfadiazine*) juga dapat diberikan untuk mencegah terjadinya infeksi (Majid dan Prayogi, 2013). Mafenide acetat juga dapat digunakan sebagai pengganti SSD. Mafenide acetat memiliki kandungan sulfa yang bersifat *broad spectrum* sehingga mampu melawan bakteri dan

beberapa jenis jamur. Keuntungan dari penggunaan mafenide acetat yaitu mampu melawan bakteri gram negative dan memiliki penetrasi yang baik disbanding SSD sehingga mampu mengontrol pertumbuhan koloni bakteri dibawah jaringan yang mengalami nekrosis (Theddeus, 2016). Pemberian analgesik golongan opioid atau NSAID dapat dipertimbangkan dengan tujuan untuk memberikan rasa nyaman dan mengurangi rasa nyeri yang timbul setelah cedera atau trauma (Majid dan Prayogi, 2013; Theddeus, 2016)

4. Menutup Area Luka Bakar

Kulit yang mengalami luka bakar sebaiknya ditutup untuk mencegah terjadi infeksi. Sebelum dilakukan penutupan luka, dapat dilakukan proses *cleaning* terlebih dahulu. *Cleaning* merupakan tindakan yang dilakukan untuk membersihkan luka, salah satunya melalui proses *debridement* atau membuang jaringan nekrosis yang dapat mengganggu proses kesembuhan luka dan mencegah terjadinya infeksi. Proses *debridement* dilakukan dengan bantuan anestesi untuk mengurangi rasa nyeri (Majid dan Prayogi, 2013).

Penutupan luka bakar atau biasa disebut *covering* merupakan tindakan yang dilakukan untuk menutup luka bakar. Tindakan ini dilakukan dengan cara menutup luka menggunakan kasa agar pelepasan panas akibat luka bakar dapat dikurangi (Majid dan Prayogi, 2013). Penggunaan kasa steril juga ditujukan untuk mencegah nyeri dan luka menjadi berdarah saat balutan diganti karena bahan yang bersifat anti lengket (Theddeus, 2016).

2.2 Kulit

Kulit merupakan organ terbesar pada tubuh, dimana memiliki total berat pada tubuh sebesar 15%. Kulit memiliki peranan penting, termasuk untuk perlindungan terhadap serangan fisik, kimia (zat-zat kimia yang bersifat toksik), maupun serangan secara biologis (mikroorganisme) serta mencegah kehilangan cairan tubuh yang berlebih dan berperan dalam termoregulasi (Kolarsick, *et al.*, 2006). Menurut Kalangi (2013), kulit terdiri dari dua lapisan utama yakni epidermis dan dermis, adapun penjelasan mengenai kedua lapisan tersebut antara lain:

a. Epidermis

Epidermis merupakan lapisan terluar kulit yang terdiri atas epitel skuamosa berlapis dengan lapisan tanduk, tidak memiliki pembuluh darah maupun limfe sehingga seluruh nutrisi dan oksigen (O_2) didapatkan dari kapiler yang terdapat pada lapisan dermis. Antara epidermis dan dermis memiliki lapisan tipis yang membatasi yang disebut *Basement Membrane Zone* (BMZ). Epidermis berperan sebagai *barrier* pertama dari tubuh makhluk hidup sehingga dikenal dengan sebutan *First Skin Immune System* (SIS). Epidermis dilengkapi dengan aksesoris-aksesorinya seperti rambut, kuku, kelenjar sebacea dan kelenjar keringat ekrin maupun apokrin (Arisanty, 2014).

Epitel skuamosa berlapis yang terdapat pada lapisan epidermis tersusun atas beberapa lapis sel, diantaranya keratinosit, melanosit, sel Langerhans dan sel Merkel. Sel-sel tersebut tetap terus diperbaharui melalui proses mitosis

dalam stratum basalis yang secara bertahap akan tumbuh terus hingga ke permukaan epitel dengan waktu berkisar 20-30 hari (Kalangi, 2013). Sel-sel yang hilang dari permukaan epitel harus sama dengan jumlah sel yang dihasilkan pada stratum basalis sehingga tidak merubah ketebalan epidermis. Keseimbangan tersebut akan dipertahankan oleh stimulator-stimulator dan inhibitor-inhibitor pertumbuhan sel, diantaranya seperti EGF (*epidermal growth factor*), TGF- α (*transforming growth factor* alfa) dan TGF- β (*transforming growth factor* beta) (Brown and Burns, 2005). Menurut Kalangi (2013), adapun lima lapisan epidermis antara lain :

1. Stratum basal

Stratum basalis atau yang biasa disebut stratum germinativum merupakan lapisan terdalam epidermis (Arisanty, 2014). Stratum basalis terdiri dari sel-sel kolumnar yang tersusun secara berderet di atas membran basalis dan bagian bawahnya terdapat serabut-serabut yang melekat dan menyebar pada superfisial dermis. Ciri-ciri dari lapisan ini yakni memiliki inti yang besar, sitoplasmanya basofilik, memiliki sel dendrit yang besar, dan terdapat melanosit yang berperan dalam produksi pigmen melanin (Kalangi, 2013).

2. Stratum spinosum

Stratum spinosum merupakan lapisan setelah stratum basalis yang terdiri dari beberapa lapis sel keratinosit berukuran besar dan berbentuk polygonal. Stratum spinosum merupakan hasil dari pembelahan sel yang saling berikatan dan melakukan migrasi ke permukaan jaringan

(Arisanty, 2014). Stratum spinosum memiliki inti lonjong serta sitoplasma yang berwarna kebiruan. Pengamatan yang dilakukan menggunakan lensa obyektif dengan perbesaran 45x dapat dilihat taju-taju yang memiliki desmosom dan seakan menghubungkan satu sel dengan sel yang lain pada lapisan spinosum. Pada lapisan ini terdapat sel-sel Langerhans yang tersebar di antara stratum spinosum dan sel dendrit yang kemungkinan merupakan modifikasi dari makrofag yang dihasilkan dari sumsum tulang dan selanjutnya bermigrasi ke bagian epidermis. Sel-sel tersebut berperan penting dalam melawan antigen yang berasal dari luar kulit untuk selanjutnya ditangkap dan disajikan kepada limfosit yang imunokompeten sehingga sistem imun dapat ditingkatkan (Kalangi, 2013).

3. Stratum granulosum

Stratum granulosum merupakan lapisan yang mengandung sel granular dan keratin. Pada stratum granulosum, semua sel berinti mulai mati dan terus melakukan migrasi ke permukaan jaringan (Arisanty, 2014). Stratum granulosum terdiri dari 2 hingga 4 lapis sel skuamosa. Sel tersebut memiliki banyak granula basofilik (partikel berwarna gelap) yang disebut sebagai granula lamellar dan keratin. Granula keratohialin memiliki mikrofilaria yang melekat diatas permukaannya, sedangkan granula lamelar (*Odland body*) dapat ditemukan dalam sitoplasma sel dari stratum granulosum. Pengamatan yang dilakukan dengan mikroskop elektron dapat memperlihatkan bahwa granula keratohialin merupakan partikel amorf

yang tidak memiliki membran, tetapi dikelilingi oleh ribosom (Kalangi, 2013).

4. Stratum lusidum

Stratum lusidum merupakan lapisan yang hanya dapat ditemukan pada bagian telapak tangan dan telapak kaki, dimana lapisan ini mengandung sel mati tak berinti (Arisanty, 2014). Stratum lusidum terdiri dari 2 hingga 3 lapisan sel skuamosa dimana pada tiap lapisannya hanya memiliki sedikit desmosom sehingga jika diamati dengan mikroskop dapat terlihat adanya celah yang memisahkan stratum korneum dari lapisan dibawahnya. Hal tersebut dapat terjadi akibat kurangnya adhesi dari tiap lapisan lusidum. Selain itu, stratum lusidum tidak dilengkapi dengan inti maupun organel pada tiap lapisannya (Kalangi, 2013).

5. Stratum korneum

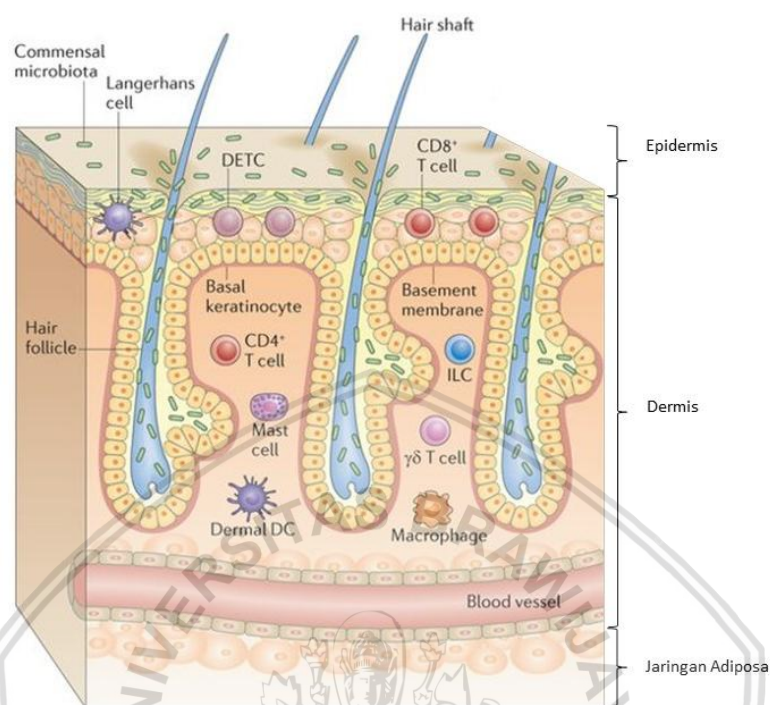
Stratum korneum merupakan lapisan terluar dari epidermis yang terdiri dari beberapa lapisan sel-sel mati yang mengalami keratinisasi, dan tidak memiliki inti maupun sitoplasma sehingga digantikan oleh keratin. Pada bagian permukaan stratum korneum terdapat kornifikasi (lapisan tanduk) yang terdehidrasi, lalu terkelupas (Kalangi, 2013).

b. Dermis

Dermis merupakan lapisan terbesar kulit yang berada tepat di bawah epidermis, dimana mengandung pembuluh darah, limfe, saraf dan reseptor sensoris. Dermis dan epidermis saling berikatan melalui penonjolan-

penonjolan epidermis (*rete ridge*) dan penonjolan-penonjolan dermis (*dermal papillae*) (**Gambar 2.5**). Dermis tersusun atas ayaman serat-serat yang saling berikatan terdiri dari serabut kolagen dan serabut elastin. Serat-serat tersebut merupakan protein yang terdiri dari mukopolisakarida (glikosaminoglikan) (Brown and Burns, 2005)..

Dermis memiliki elemen selular utama yakni fibroblas, sel mast, dan makrofag. Fibroblas membentuk matriks jaringan ikat yang sangat berdekatan dengan serat-serat kolagen dan elastin pada demis. Sel mast meupakan sel yang berperan untuk menghasilkan sekret dan terdiri dari granula yang mengandung mediator-mediator diantaranya seperti histamin, prostaglandin, leukotrin dan faktor-faktor kemotaksis seperti eosinofil dan neutrofil. Makrofag merupakan sel fagositik yang dihasilkan oleh sumsum tulang, dimana memiliki peran sebagai pengumpul debris sel dan bahan ekstraseluler (Brown and Burns, 2005).



Gambar 2.5 Lapisan-Lapisan dan Apendiks Kulit (Pasparakis *et al.*, 2014).

2.3 Kesembuhan Luka

Kesembuhan luka merupakan suatu proses pemulihan terhadap kontinuitas anatomik dan fungsi jaringan setelah mengalami cedera. Menurut Pratama dkk., (2017), proses kesembuhan luka dibagi menjadi empat tahap, antara lain:

1. Hemostasis

Hemostasis merupakan tahap pertama dari proses kesembuhan luka yang diawali oleh komponen pembekuan darah seperti trombosit. Trombosit bekerja dengan cara beredar ke jaringan kolagen yang mengalami cedera sehingga menimbulkan aktivasi, agregasi dan adhesi pada endothelium yang rusak. Setelah itu, fibrinogen akan diubah menjadi fibrin melalui mekanisme

penggumpalan yang menyebabkan terjadinya koagulasi (darah tanpa sel dan trombosit) dan bersamaan dengan hal tersebut maka terjadi pembekuan darah pada luka sehingga perdarahan dapat dihentikan. Pembekuan yang terjadi kemudian mengering dan membentuk matriks ekstraselular dan membuat jaringan yang mengalami cedera menjadi kuat. Selain itu, trombosit yang telah teraktivasi juga akan melepaskan protein yang menginduksi migrasi dan adhesi neutrophil dan monosit, serta beberapa faktor pertumbuhan sehingga dapat meningkatkan kesembuhan luka (Pratama, dkk. 2017).

2. Inflamasi

Inflamasi merupakan tahap kedua dari proses kesembuhan luka yang dimulai sesaat setelah terjadinya cedera. Tahap ini terjadi hampir bersamaan dengan tahap hemostatis dan dapat berlangsung selama 4-6 hari. Fase inflamasi bertujuan untuk mencapai hemostasis, melepaskan jaringan mati dan mencegah infeksi invasif (Theddeus, 2016). Fase inflamasi diawali dengan adanya respon vascular dan sekresi sitokin kemotaktik. Sekitar jaringan luka akan mengalami iskemia yang menstimulasi pelepasan histamin dan zat vasoaktif yang menyebabkan terjadinya vasodilatasi, pelepasan trombosit, reaksi vasodilatasi dan vasokonstriksi serta pembentukan lapisan fibrin. Lapisan fibrin selanjutnya akan membentuk *scab* atau yang dikenal dengan sebutan keropeng di atas permukaan luka dan berfungsi untuk melindungi luka dari kontaminasi bakteri. Setelah terjadi respon vascular, selanjutnya masuk ke respon inflamasi dimana tubuh akan melakukan perlindungan terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Respon

inflamasi terjadi ketika banyak aliran darah yang menuju ke sekitar luka sehingga menimbulkan terjadinya pembengkakan, kemerahan dan lainnya (Arisanty, 2014).

Tahap inflamasi berperan penting dalam terjadinya fagositosis dengan cara menginfiltrasi neutrophil ke dalam jaringan yang mengalami cedera, lalu mengaktivasi molekul adhesive yang berada di permukaan endotel vascular sehingga neutrofil dapat menempel pada endothelium. Dalam hal ini, neutrofil memiliki peran utama untuk mengendalikan infeksi yang terjadi pada jaringan dan membantu proses kesembuhan luka dengan cara menghasilkan beberapa faktor pertumbuhan yang dapat memicu tahap proliferasi dan protease sel sehingga akan menurunkan matriks ekstraselular. Inflamasi dimulai saat monosit dengan cepat berdeferensiasi menjadi makrofag matang saat memasuki jaringan. Makrofag pro-inflamasi kemudian akan memfagositosis bakteri, benda asing dan neutrophil yang mengalami apoptosis, serta akan mengekspresikan berbagai mediator proinflammatory dan sitokin (Pratama, dkk. 2017).

3. Proliferasi

Fase proliferasi dimulai pada hari ke 4 sampai 14-21 setelah terjadinya luka. Fase proliferasi bertujuan untuk membentuk jaringan granulasi, penyusunan sistem kapiler baru, dan penutupan luka (Theddeus, 2016). Fase proliferasi ditandai dengan adanya pembentukan jaringan granulasi pada daerah luka. Proses lain seperti destruktif, dan epitelisasi juga akan terjadi di fase proliferasi. Saat terjadi fase destruktif, sel polimorf dan makrofag akan

melakukan fagositosis terhadap bakteri jahat sehingga terjadi proses debris pada daerah luka. Makrofag juga akan menstimulasi fibroblas untuk menghasilkan kolagen dan elastin. Kolagen dan elastin akan membentuk matrik atau ikatan jaringan baru untuk menutupi luka. Tumbuhnya sel-sel baru tersebut memicu terbentuknya jaringan granulasi. Jaringan granulasi merupakan jaringan ikat yang tersusun atas makrofag, sel endotel dan kumpulan fibroblas yang terbentuk dari proses fibroplasia, angiogenesis dan reepitelisasi. Fase epitelisasi terjadi setelah terbentuknya jaringan granulasi yang ditunjukkan dengan adanya lapisan tipis berwarna merah muda yang mulai menutupi luka dimulai dari tepi luka. Tidak menutup kemungkinan fase epitelisasi terjadi tanpa adanya jaringan granulasi. Hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya penutupan luka yang tidak sempurna (Arisanty, 2014).

Saat fase inflamasi berakhir, makrofag akan diaktivasi dan diubah menjadi makrofag antiinflamasi. Makrofag antiinflamasi berperan dalam mengekspresikan berbagai mediator antiinflamasi, enzim protease dan protease inhibitor, serta *growth factor* seperti VEGF (*vascular endothelial growth factor*), TGF- β 1 (*transforming growth factor- β 1*), TGF- α (*transforming growth factor- α*), dan FGF (*fibroblast growth factor*) yang akan mendukung proliferasi sel, sintesis protein dan proses angiogenesis (Theddeus, 2016; Pratama, dkk. 2017). Selain makrofag, fibroblas juga mengaktifkan FGF-2 yang menstimulasi regenerasi sel endotel. Sel endotel kemudian akan memproduksi IGF (*insulin growth factor*) yang membantu

proliferasi keratinosit dan fibroblas (Theddeus, 2016). Fibroblas kemudian diaktivasi oleh *growth factor* yang dilepaskan oleh makrofag dan bermigrasi ke luka, lalu akan berproliferasi dan menghasilkan kolagen dalam jumlah yang besar dan molekul ekstraselular. Beberapa substansi lainnya juga ikut serta dikeluarkan oleh fibroblas seperti elastin, *hyarunic acid*, *fibronectin* dan *proteoglycans* yang akan bekerja sama dalam pembentukan jaringan baru (Pratama, dkk. 2017).

4. Maturasi/remodeling

Fase maturasi merupakan fase terakhir yang dimulai pada minggu ke 2 hingga 3 setelah terjadinya luka (Pratama, dkk., 2017). Fase maturasi dapat berlangsung selama 6 bulan hingga 1 tahun. Fase maturasi bertujuan untuk mencapai pertautan jaringan (*tensile strenght*) hingga sekitar 80% dari kekuatan pertautan jaringan kulit normal (Theddeus, 2016). Fase maturasi akan menurunkan kerapatan pembuluh darah dan mensintesis pembentukan kolagen baru. Fase ini akan didominasi oleh aktivitas penguatan jaringan sel dan epitel baru sehingga hal tersebut yang menentukan bekas luka (Pratama, dkk. 2017). Fase maturasi akan menimbulkan rasa gatal dan penonjolan epitel yang biasa disebut keloid pada permukaan kulit (Arisanty, 2014).

2.4 Gel Ekstrak Plasenta

Gel ekstrak plasenta merupakan salah satu obat topikal standar yang digunakan untuk mengobati luka bakar. Sediaan topikal ekstrak plasenta tersedia dalam bentuk gel yang memiliki kandungan ekstra plasenta 10% dan

neomisin sulfat 0,5% (MIMS, 2016). Kedua kandungan tersebut baik ekstra plasenta 10% maupun neomisin sulfat 0,5% berperan penting dalam mempercepat proses kesembuhan luka karena memiliki kandungan air yang cukup tinggi sehingga dapat bekerja secara optimal dan memberikan rasa sejuk serta nyaman pada kulit yang mengalami cedera. Ekstrak plasenta sudah banyak digunakan selama bertahun-tahun untuk keperluan kosmetik dan penyembuhan luka di beberapa negara termasuk India. Ekstrak plasenta kaya akan molekul bioaktif enzim, asam nukleat, asam amino, asam lemak, vitamin, steroids dan mineral (Park *et al.*, 2010). Ekstrak plasenta 10% bekerja dengan cara mempercepat regenerasi sel melalui peningkatan kadar VEGF dan merangsang sirkulasi darah pada area luka. Ekstrak plasenta juga kaya akan bahan pembentuk kolagen sehingga mampu mencegah penuaan, dan meremajakan kulit (Cho *et al.*, 2008).

Neomisin sulfat 0,5% adalah antibiotik golongan aminoglikosida yang berbeda dengan obat aminoglikosida lainnya karena hanya dapat digunakan secara topikal pada kulit dan oral untuk dekontaminasi bakteri (Wientarsih, dkk., 2017; Padua *et al.*, 2005). Neomisin sulfat dapat digunakan untuk mencegah infeksi pada kulit yang mengalami cedera seperti luka sayat, gores dan luka bakar (AHFS DI Essential, 2006). Neomisin sulfat 0,5% bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri melalui ikatan ribosom subunit 30s untuk mencegah terjadinya infeksi bakteri pada daerah luka (Wientarsih, dkk., 2017).

2.5 *Virgin Coconut Oil (VCO)*

VCO (*Virgin coconut oil*) merupakan minyak kelapa murni yang diperoleh melalui proses fermentasi santan kelapa selama 8-12 jam tanpa adanya proses pemutihan dan hidrogenasi (Sutarmanto, 2015). VCO merupakan salah satu bahan pangan sumber lemak yang saat ini banyak diminati karena diketahui memiliki khasiat bagi kesehatan. Apabila digunakan sebagai obat topical, VCO berfungsi untuk melindungi kulit dari radikal bebas, melembabkan kulit dan mencegah terjadi infeksi.

2.5.1 Kandungan *Virgin Coconut Oil (VCO)*

1. Asam Laurat

VCO memiliki kandungan utama yakni asam lemak jenuh sebesar 92% yang terdiri dari 48-53% asam laurat, 8% asam kaprilat dan 7% asam kaprat (Lucida *et al.*, 2008). Ketiganya merupakan asam lemak rantai sedang (*medium chain saturated fatty acid*-MCSFA) atau biasa disebut sebagai *medium chain fatty acid* (MCFA) yang lebih mudah diserap ke dalam sel sehingga tidak akan menimbulkan penimbunan lemak di dalam tubuh (Setiadji dan Prayugo, 2006). Selain MCFA, VCO mengandung *Medium Chain Triglyceride* (MCT) berupa asam laurat, flavonoid, dan tokoferol yang berfungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan sehingga dapat berperan dalam mencegah terjadinya infeksi dan kerusakan sel yang berlebihan pada luka (Tamara, dkk. 2014).

Minyak kelapa yang tergolong sebagai trigliserida tidak berperan dalam aktivitas antibakteri dan antiviral, tetapi bila VCO dihidrolisis sebagian

maka dapat menghasilkan asam lemak bebas dan monogliserida. Kombinasi dari asam lemak bebas dan monogliserida diketahui dapat berperan sebagai antibakteri dan antivirus. Salah satu hasil dari kombinasi asam lemak bebas dan monogliserida yang paling aktif sebagai antibakteri dan antivirus adalah asam laurat (Silalahi *and* Surbakti, 2015). Asam laurat merupakan salah satu asam lemak jenuh yang mudah diserap ke dalam sel sehingga tidak akan menimbulkan penimbunan lemak di dalam tubuh (Setiaji dan Prayugo, 2006). Kemudahan penyerapan tersebut meningkatkan metabolisme dan sel akan bekerja lebih efisien untuk membentuk sel baru serta mengganti sel yang rusak sehingga akan mempercepat kesembuhan luka (Silalahi *and* Surbakti, 2015). Ketika masuk ke dalam tubuh, asam laurat akan diubah oleh enzim lipase menjadi monolaurin. Monolaurin merupakan suatu senyawa monogliserida yang berfungsi sebagai antivirus, antibakteri, dan antiprotozoal bekerja dengan cara merusak struktur *lipid bilayer* virus dan membran sel bakteri (Setiaji dan Prayugo, 2006).

Asam laurat dapat merangsang aktifitas TGF- β yang akan berproliferasi dan menstimulasi fibronectin dalam pembentukan gumpalan benang fibrin. Gumpalan benang fibrin selanjutnya membentuk kerangka reepitalisasi dan proliferasi fibroblas. Apabila gumpalan benang fibrin terbentuk dengan cepat maka fibroblas akan segera berproliferasi sehingga secara otomatis akan meningkatkan jumlah fibroblas dan mempercepat kesembuhan luka (Tamara dkk., 2014).

2. Tokoferol

Tokoferol atau yang dikenal sebagai vitamin E merupakan zat gizi yang penting karena memiliki sifat sebagai antioksidan (Lamid, 1995). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal radikal bebas sehingga kadar ROS yang dihasilkan makrofag pada jaringan yang rusak dapat diturunkan oleh *tokoferol*. Aktivitas antioksidan dari *tokoferol* dapat mencegah kaskade asam arakidonat dan peroksidasi lipid. Kaskade asam arakidonat memicu munculnya mediator inflamasi seperti *prostaglandin* dan *leukotrien* sehingga fase inflamasi akan berlangsung lebih lama (Silalahi and Surbakti, 2015).

3. *Flavonoid*

Flavonoid bekerja sama dengan *tokoferol* dan *phytosterol* sebagai antiinflamasi yang bekerja dengan cara menghambat kaskade arakidonat pada jalur siklooksigenasi dan menghambat permeabilitas kapiler sehingga hal tersebut dapat menurunkan pelepasan mediator radang serta meminimalisir migrasi dari sel radang (Silalahi and Surbakti, 2015). *Flavonoid* juga dapat berperan sebagai imunomodulator sehingga dapat mengaktifasi makrofag. Makrofag yang teraktivasi selanjutnya akan menstimulasi proliferasi fibroblas untuk menghasilkan kolagen dan elastin yang berperan dalam proses penutupan luka (Arisanty, 2014).

2.6 *Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2)*

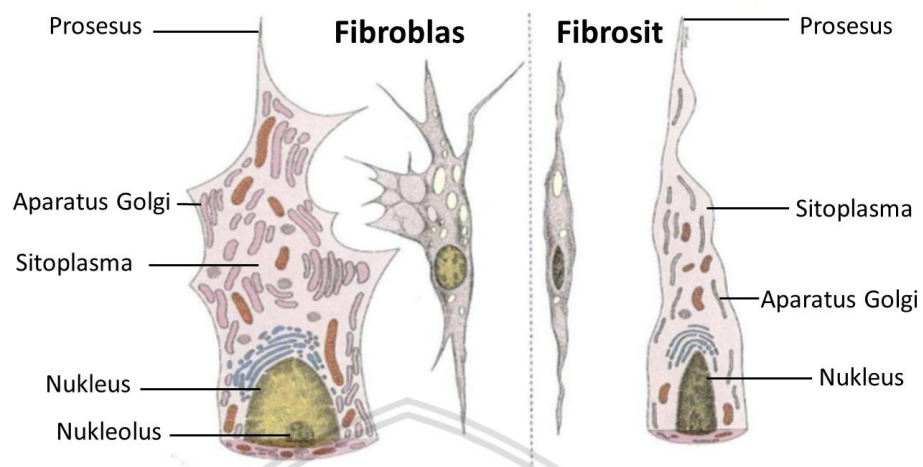
Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) atau disebut juga FGF-2 adalah salah satu FGF yang memiliki pengaruh amat besar terhadap

perkembangan jaringan granulasi, proliferasi fibroblas dan angiogenesis (Putri dan Tasminatun, 2012). *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) juga berperan besar dalam kesembuhan luka melalui pengaktifan makrofag lokal, sehingga efek yang ditimbulkan yakni proliferasi sel batang mesenkrim yang dapat mempercepat penutupan luka (Akita, 2013). *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) bersumber dari makrofag, limfosit T, dan sel endotel pada berbagai jaringan. *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) pertama kali diidentifikasi sebagai *146-amino acid protein* yang diisolasi dari *pituitary*. Pada proses angiogenesis, FGF-2 mampu menstimulasi pembentukan pembuluh darah baru baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Secara *in vivo* FGF-2 berperan sebagai molekul poten dalam proses angiogenesis, sedangkan secara *in vitro* FGF-2 berperan untuk menstimulasi pertumbuhan sel otot polos, penyembuhan luka dan perbaikan jaringan (Cotton LM *et al.*, 2008).

Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2) berasal dari makrofag, keratinosit, platelet, fibroblas, fibrosit dan sel endotel. *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) yang disekresikan oleh makrofag selanjutnya akan berperan dalam proses angiogenesis. Saat proses penyembuhan luka, FGF-2 berfungsi untuk menginisiasi migrasi dari makrofag, sel fibroblas, sel endotel dan epitel untuk membentuk lapisan epidermis kulit yang baru. Selanjutnya sel akan memberikan respon dengan cara memproduksi matriks agar terjadi deposisi jaringan ikat yang baru saat fase proliferasi (Arundina dan Suardita, 2014).

2.7 Fibroblas

Fibroblas merupakan sel yang berfungsi untuk mensintesis beberapa komponen matriks ekstraseluler dari jaringan ikat seperti kolagen, retikuler dan elastin, beberapa makromolekul anionik seperti glikosaminoglikans dan proteoglikans, serta glikoprotein multiadesif seperti lamina dan fibronectin yang bertugas untuk mendorong perlekatan sel pada substrat. Selain itu, fibroblas juga berfungsi untuk mensekresikan sitokin dan beberapa *growth factors* yang dapat menstimulasi proliferasi sel dan menghambat proses diferensiasi (Mallon *et al.*, 2006). Berdasarkan morfologinya, fibroblas dibagi menjadi 2 yakni fibroblas yang berbentuk sel muda dan fibrosit yang berbentuk sel dewasa. Fibroblas merupakan sel berukuran besar, gepeng, bercabang-cabang dan dari samping terlihat fusiform. Pada pemeriksaan histologi, batas sel tidak terlihat nyata sehingga bentukan nukleus dari fibroblas dijadikan pedoman untuk mengidentifikasinya. Nukleus yang dimiliki fibroblas berbentuk lonjong dengan satu atau dua nucleolus yang jelas serta dilengkapi dengan sedikit kromatin halus. Sel fibrosit merupakan sel yang mudah ditemukan pada jaringan ikat. Pada pemeriksaan histologi, dapat dilihat sejumlah kecil retikulum endoplasma kasar (REK) dengan apparatus golgi yang kecil (**Gambar 2.6**). Adapun perbedaan antara fibroblas dan fibrosit dapat dilihat pada **tabel 2.1**



Gambar 2.6 Fibroblas dan Fibrosit (Junqueira, 2007).

Tabel 2.1 Perbedaan Fibroblas dan Fibrosit

Perbedaan	Fibroblas	Fibrosit
Ukuran	Besar	Kecil
Aktivitas	Aktif	Pasif
Jumlah Prosesus	Banyak	Sedikit
Nukleus	Bulat telur, besar	Panjang, lebih kecil
Nukleolus	Jelas	-
Sitoplasma	Penuh dengan retikulum sitoplasmik granuler	Asidopilik dengan retikulum endoplasmic granuler
Aparatus golgi	Berkembang	Kurang berkembang

(Sumber : Harjana, 2011).

2.8 Tikus Putih (*Rattus novergicus*)

Tikus termasuk hewan mamalia sehingga diharapkan dapat memberikan dampak yang tidak jauh berbeda terhadap suatu perlakuan yang diberikan pada mamalia lainnya. Selain itu, penggunaan tikus sebagai hewan percobaan juga didasarkan atas pertimbangan ekonomis dan lama reproduksi 1 tahun dengan kemampuan hidup tikus hanya 2-3 tahun (Maula, 2014). Kelompok tikus laboratorium pertama kali dikembangkan di

Amerika Serikat antara tahun 1877 dan 1893. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) memiliki ciri-ciri antara lain rambut tubuh berwarna putih dan mata yang merah, panjang tubuh total 440 mm, dan panjang ekor 205 mm (**Gambar 2.7**). Berat dewasa rata-rata 200-250 gram, tetapi bervariasi tergantung pada galur. Keunggulan yang dimiliki tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibandingkan dengan tikus liar lainnya antara lain lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih cepat dalam berkembang biak. Selain itu, tikus putih (*Rattus norvegicus*) juga sangat mudah ditangani, dapat ditinggal sendirian dalam kandang asal dapat mendengar suara tikus lain dan memiliki ukuran tubuh yang cukup besar sehingga memudahkan pengamatan (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Berbagai penelitian yang menggunakan model luka lebih sering menggunakan tikus jantan dibanding tikus betina. Hal tersebut didukung oleh beberapa karakter tikus jantan yang cenderung lebih mudah ditangani dan dipelihara sehingga diharapkan dapat memudahkan jalannya penelitian (Sirois, 2005). Pada penelitian yang dilakukan oleh Negara dkk., (2014), tikus yang digunakan sebagai hewan model luka bakar derajat II adalah tikus putih jantan galur dengan usia 75-90 hari, hal tersebut dikarenakan proliferasi sel pada usia pertumbuhan ini berlangsung cepat sehingga mendukung proses penyembuhan luka.

Menurut Krinke (2000) klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Subphylum : Vertebrata
Class : Mammalia
Order : Rodentia
Family : Muridae
Genus : Rattus
Species : norvegicus

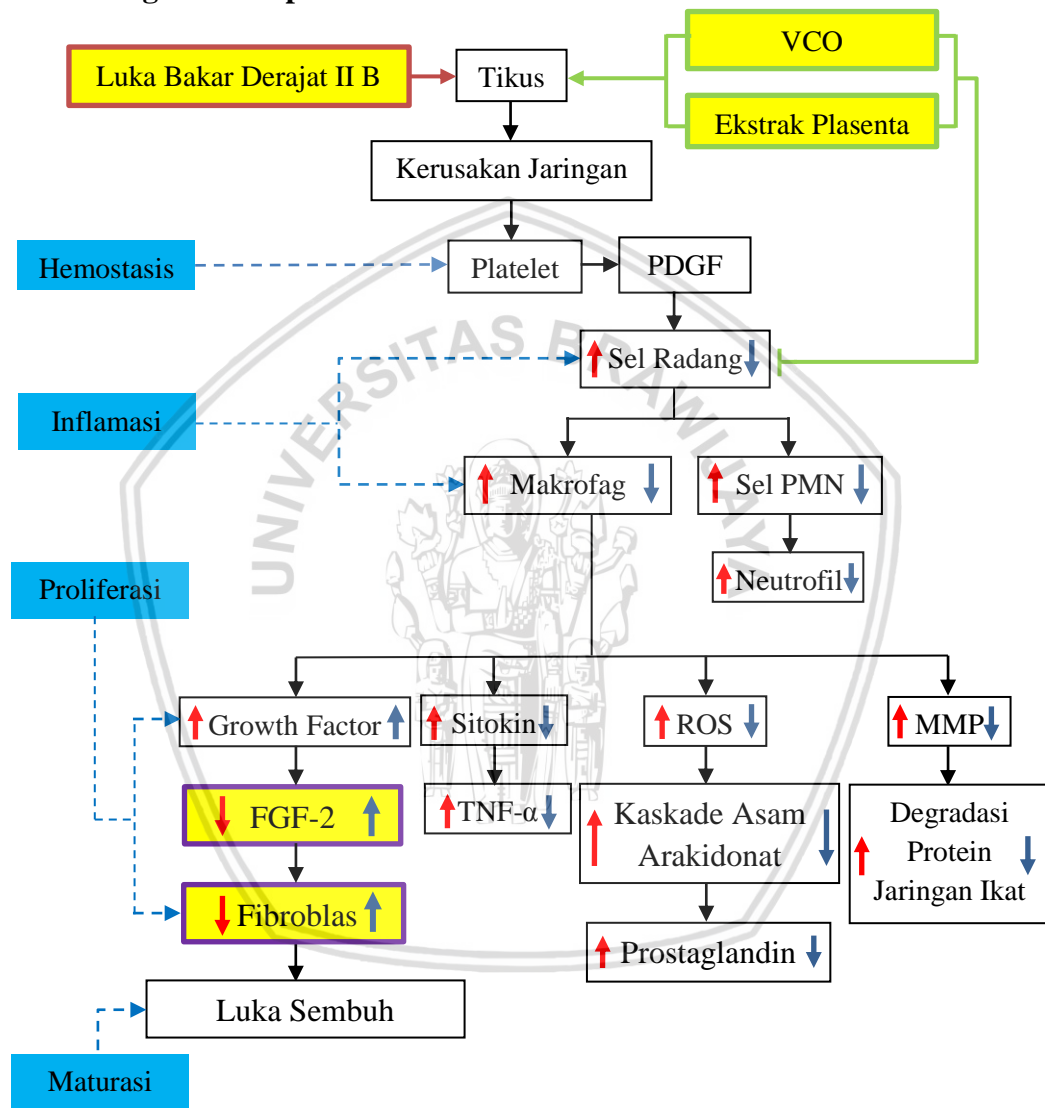


Gambar 2.7 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Krinke, 2000)

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:

- : Induksi luka bakar derajat II B
- : Pemberian terapi
- : Variabel yang diamati
- T : Menghambat
- ↑↓ : Stimulasi
- ↑↓ : Efek luka bakar derajat II B

Tikus putih (*Rattus novergicus*) diinduksi dengan luka bakar derajat II B dengan cara menempelkan *solder* yang telah dimodifikasi dengan plat besi berukuran 2x2 pada bagian *flank* tikus selama 10 detik. Penempelan *solder* tersebut menimbulkan kerusakan lokal maupun sistemik pada kulit yang memicu fase hemostatis berupa agregasi platelet. Pada saat yang sama tubuh akan memberikan respon berupa vasokonstriksi pembuluh darah yang memperlambat aliran darah sehingga kondisi tersebut akan mengurangi jumlah darah yang akan dialirkan. Adanya penyempitan pembuluh darah menyebabkan agregasi platelet atau trombosit dibawah pengaruh dari *adenosine diphosphate* (ADP). Platelet yang teragregasi akan menimbulkan terjadinya fase hemostasis. Platelet juga akan memproduksi beberapa growth factor seperti PDGF yang berperan dalam fase proliferasi melalui peningkatan kemotaksis dari sel radang sehingga menyebabkan keluarnya berbagai mediator inflamasi seperti sel PMN dan makrofag yang akan memicu fase inflamasi.

Sel yang pertama kali muncul saat terjadinya fase inflamasi, yaitu neutrofil yang dilanjutkan dengan munculnya makrofag. Makrofag berfungsi untuk memproduksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , dan mengeliminasi bakteri dengan cara memproduksi ROS. ROS berfungsi untuk mencegah infeksi bakteri saat terjadi inflamasi melalui sifat radikal bebasnya. Hanya saja, ROS dengan kadar yang tinggi dapat mengaktivasi dan mempertahankan kaskade asam arakidonat yang memicu kembali munculnya berbagai mediator inflamasi seperti *prostaglandin* dan *leukotriene* sehingga hal tersebut akan memperpanjang fase inflamasi. Makrofag juga memproduksi berbagai macam *growth factor* salah

satunya seperti FGF-2 yang berperan dalam proses angiogenesis dan pembentukan fibroblas.

Gel ekstrak plasenta memiliki kandungan ekstra plasenta 10% dan neomisin sulfat 0,5%. Kedua kandungan tersebut baik ekstra plasenta 10% maupun neomisin sulfat 0,5% berperan penting dalam mempercepat proses kesembuhan luka karena memiliki kandungan air yang cukup tinggi sehingga dapat bekerja secara optimal dan memberikan rasa sejuk serta nyaman pada kulit yang mengalami cedera. Ekstrak plasenta 10% bekerja dengan cara mempercepat regenerasi sel melalui peningkatan kadar VEGF dan merangsang sirkulasi darah pada area luka di fase awal hingga akhir kesembuhan luka bakar, sedangkan kandungan neomisin sulfat 0,5% bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri melalui ikatan ribosom subunit 30s untuk mencegah terjadinya infeksi bakteri pada daerah luka. Ekstrak plasenta juga kaya akan bahan pembentuk kolagen sehingga mampu mencegah penuaan, dan meremajakan kulit.

Pemberian terapi salep VCO dapat mempercepat penyembuhan luka bakar derajat II B karena memiliki kandungan yang bersifat sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri dan menstimulasi beberapa *growth factor* yang dapat merangsang pertumbuhan sel-sel baru pada luka. Kandungan *tokoferol*, *flavonoid*, dan *phytosterol* bekerja sebagai antioksidan dan antiinflamasi dengan cara menghambat kaskade arakidonat dan menghambat permeabilitas kapiler sehingga hal tersebut dapat menurunkan pelepasan mediator radang seperti prostaglandin sehingga akan mengurangi rasa nyeri, edema, vasodilatasi pembuluh darah dan tidak memperpanjang fase inflamasi pada proses penyembuhan luka. Asam laurat

yang terkandung dalam VCO berfungsi sebagai imunomodulator yang dapat mengaktifasi makrofag. Makrofag yang teraktivasi akan melakukan fagositosis, memproduksi sitokin, melakukan perbaikan jaringan (*fibroblast stimulating factor*, *fibronectin kolagenase*), dan memproduksi *growth factor* salah satunya ialah FGF-2. FGF-2 yang diekspresikan memiliki pengaruh amat besar terhadap perkembangan jaringan granulasi, proliferasi fibroblas dan angiogenesis. Semakin banyak fibroblas yang dihasilkan akan mempercepat proses kesembuhan luka. VCO juga memiliki kandungan asam laurat yang berfungsi sebagai imunomodulator, antibakteri, antivirus dan antifungal. Di dalam tubuh asam laurat akan diubah menjadi monolaurin, yaitu sebuah senyawa monogliserida yang dapat merusak struktur *lipid bilayer* virus dan membran sel bakteri sehingga bakteri akan mati dan kulit yang mengalami luka bakar derajat II B dapat dilindungi dari infeksi.

Pemberian salep VCO diharapkan mampu berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri dan menstimulasi beberapa *growth factor* yang dapat merangsang pertumbuhan sel-sel baru sehingga fase inflamasi dapat dipercepat dan hal tersebut dapat mempercepat proses penyembuhan luka bakar derajat II B.

3.2 Hipotesa Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disebutkan, maka hipotesis yang diajukan adalah sebagai berikut:

1. Pemberian terapi salep VCO dan gel ekstrak plasenta pada kulit yang mengalami luka bakar derajat II B pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) memiliki efek yang berbeda terhadap ekspresi FGF-2
2. Pemberian terapi salep VCO dan gel ekstrak plasenta pada kulit yang mengalami luka bakar derajat II B pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) memiliki efek yang berbeda terhadap jumlah fibroblas



BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari hingga Maret 2018. Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di beberapa laboratorium, diantaranya: Pembuatan salep VCO, pemeliharaan, perlakuan, dan *euthanasi* hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi FK UB. Pembuatan preparat histopatologi kulit dan pewarnaan HE dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Kesima Medika. Pewarnaan IHK dilakukan di Laboratorium Faal FK UB. Pengamatan dan pemeriksaan preparat HE dan IHK dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UB.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian menggunakan hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* berjenis kelamin jantan, berumur 75-90 hari, dengan berat badan 150-200 gram. Hewan coba diaklimatisasi selama satu minggu untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan laboratorium. Pada penelitian ini terdapat 2 kelompok perlakuan, yaitu terapi salep VCO (P1) dan terapi gel ekstrak plasenta (P2). Estimasi jumlah sampel dihitung dengan rumus sebagai berikut (Montgomery dan Kowalsky, 2011):

$$p(n-1) \geq 15$$

$$2(n-1) \geq 15$$

$$2n - 2 \geq 15$$

$$2n \geq 15+2$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5 \sim 9$$

Keterangan :

p = Jumlah perlakuan

n = Jumlah ulangan yang diperlukan

berdasarkan hasil perhitungan tersebut, maka untuk 2 kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan sebanyak 9 kali dalam setiap perlakuan, sehingga jumlah hewan coba yang dibutuhkan dalam penelitian adalah 18 ekor.

4.3 Alat dan Bahan Penelitian

4.3.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain kandang hewan coba, *disposable syringe* 1 ml, mikropipet, *waterbath*, *solder* listrik yang telah dimodifikasi, *object glass*, *cover glass*, mikroskop, *microruller*, autoclave, gelas ukur, peralatan bedah, dan pot organ.

4.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan, strain *Wistar*, yang mendapatkan pakan BR1 dan minum *ad libitum*, dipesan di Laboratorium Farmakologi FK UB, gel ekstrak plasenta, minyak VCO, NaCl fisiologis 0,9%, PBS pH 7,4, H₂O₂ 3%, *Bovine Serumem*

Albumin (BSA) 1%, *Strep Avian Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP), *Diamano Benzidine* (DAB) akuades, formalin buffer 10%, ketamin HCL 10%, xylazine 2%, alkohol 70%, xylol, ethanol (konsentrasi absolut, 95%, 90%, 80%, dan 70%), antibodi FGF-2, serta bahan pewarnaan IHK dan HE.

4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik menggunakan *post test only two group experimental design*. Pada penelitian ini, subyek dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan dan tiap kelompok perlakuan terdiri dari 9 tikus putih (*Rattus novergicus*). Kelompok perlakuan pada penelitian ini, antara lain:

Tabel 4.1 Rancangan Penelitian

Kelompok	Perlakuan
P1	Luka bakar derajat II B + Terapi salep VCO
P2	Luka bakar derajat II B + Terapi gel ekstrak plasenta

4.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian terdiri dari :

1. Variabel bebas

Terapi salep VCO (P1) dan gel ekstrak plasenta (P2) pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model luka bakar derajat II B.

2. Variabel tergantung

Ekspresi FGF-2 dan jumlah fibroblas

3. Variabel kontrol

Jenis kelamin, umur, berat badan, lingkungan, pakan dan minum tikus putih (*Rattus novergicus*).

4.6 Tahapan Penelitian

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Tikus putih (*Rattus novergicus*) yang digunakan untuk penelitian diaklimatisasi terlebih dahulu selama 1 minggu dengan pemberian pakan dan minum *ad libitum*, agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan laboratorium. Tikus putih (*Rattus novergicus*) dibagi menjadi 2 kelompok, dimana setiap kelompok terdiri dari 9 ekor tikus putih (*Rattus novergicus*). Pakan yang diberikan pada semua tikus putih (*Rattus novergicus*) berupa ransum basal.

Pemeliharaan tikus putih (*Rattus novergicus*) dilakukan dalam kandang berukuran 20x30 cm dan tinggi 10 cm. Setiap ekor tikus putih (*Rattus novergicus*) diletakkan pada kandang yang berbeda (kandang individu). Bagian atas kandang dipasang kawat ram sebagai penutup kandang. Lantai kandang diberikan *underpad* agar mudah dibersihkan dan disanitasi. Kandang ditempatkan pada tempat yang jauh dari kebisingan dan polutan dengan ventilasi udara yang memadai.

4.6.2 Pembuatan Luka Bakar Derajat II B

Tahap awal pembuatan luka bakar derajat II B, yaitu dengan mencukur bulu yang berada pada daerah *flank* tikus putih (*Rattus novergicus*) dengan diameter 2x2 cm. Pencukuran bulu yang dilakukan diusahakan untuk tidak menimbulkan abrasi pada kulit. Sebelum dilakukan pembuatan luka bakar, tikus putih (*Rattus novergicus*) diberi anestesi menggunakan ketamin HCl 10% dan Xylazine 2% intramuskular. Selanjutnya, bagian kulit *flank* tikus putih (*Rattus novergicus*) dibuat luka bakar derajat II B (*deep partial thickness*) dengan cara menempelkan *solder* yang telah dimodifikasi dengan plat besi berukuran 2x2 dan dipanaskan selama 5 menit hingga mencapai suhu 100-150°C pada daerah *flank* tikus selama 10 detik (Akbari, *et al.* 2015; Abdeldjeil, 2017). Luka kemudian dikompres memakai akuades selama 60 detik agar tidak meluas (Negara, dkk., 2014). Perlakuan ini membentuk luka bakar derajat II B ditandai dengan ada warna kemerahan dan terbentuk bula (gelembung air) pada kulit tikus (Simanjuntak, 2008).

4.6.3 Pemberian Gel Ekstrak Plasenta

Gel ekstrak plasenta pertama kali diberikan secara topikal, 10-15 menit setelah pembuatan luka bakar (Wardono, dkk., 2012). Terapi gel ekstrak plasenta dilakukan selama 7 hari, dengan interval pemberian sebanyak dua kali sehari, pagi pada pukul 08.00 WIB dan sore pada pukul 16.00 WIB, secara topikal dengan mengoleskan sediaan gel pada area luka (Balqis, dkk., 2014). Banyaknya gel yang dioleskan disesuaikan dengan luas luka (Yanhendri dan Yenny, 2012).

4.6.4 Pemberian Terapi Salep *Virgin Coconut Oil* (VCO)

Salep VCO pertama kali diberikan secara topikal, 10-15 menit setelah pembuatan luka bakar (Wardono, dkk., 2012). Terapi salep VCO kemudian dilakukan selama 7 hari, dengan interval pemberian sebanyak dua kali sehari, pagi pada pukul 08.00 WIB dan sore pada pukul 16.00 WIB secara topikal dengan mengoleskan sediaan salep pada area luka (Balqis, dkk., 2014). Banyaknya salep yang dioleskan disesuaikan dengan luas luka (Yanhendri dan Yenny, 2012). Konsentrasi VCO yang digunakan adalah 70% (**Lampiran 5**).

Produk VCO ini diperoleh dari buah kelapa (*Cocos nucifera L*) yang diproses tanpa proses pemutihan, hidrogenasi, penambahan air, maupun pemanasan. *Virgin Coconut Oil* (VCO) disimpan dalam wadah yang tertutup rapat dan tidak boleh terkena air, asap atau sentuhan kulit, serta ditempatkan dalam suhu ruang yang kering dan tidak terkena sinar matahari secara langsung. Pada penelitian ini, VCO yang digunakan dibuat dalam sediaan salep dengan perbandingan 7:3, yaitu mencampurkan VCO 70% dan adeps lanae sebanyak 30%. Menurut Hastuti (2017), prosedur pembuatan salep VCO, antara lain: (1). Metakkan adeps lanae pada cawan, kemudian ditimbang; (2). Masukkan adeps lanae yang telah ditimbang ke dalam mortar; (3). Menambahkan VCO 70% dalam mortar, kemudian diaduk hingga homogen dan membentuk sediaan salep.

4.6.5 Pengambilan Lesi dan Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit

Pengambilan lesi luka bakar dilakukan dengan cara mengeutansi tikus putih (*Rattus novergicus*) terlebih dahulu dengan metode dislokasio *os occipital*. Tikus putih (*Rattus novergicus*) diletakkan diatas nampan bedah dengan posisi

rebah ventral. Pengambilan lesi dilakukan pada bagian kulit yang mengalami luka bakar, kemudian dicuci dengan NaCl fisiologis dan direndam dalam larutan *formalin buffer* 10%, kemudian disimpan pada suhu ruang. Preparat dibuat dengan metode *Automatic Tissue Processing*, adapun tahapan pembuatan, meliputi:

1. Fiksasi

Fiksasi merupakan tahap awal pembuatan preparat histopatologi kulit. Setelah jaringan kulit dikoleksi, kemudian sampel tersebut dimasukkan kedalam larutan *formalin buffer*. Tahap ini memiliki tujuan untuk mengawetkan dan mengeraskan jaringan kulit.

2. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan tahap kedua yang bertujuan untuk mengeluarkan air dari dalam jaringan kulit yang telah difiksasi dengan menggunakan etanol secara bertingkat dimulai dari konsentrasi 70% hingga mencapai konsentrasi absolut.

3. *Clearing*

Clearing atau penjernihan merupakan tahap ketiga yang bertujuan untuk menggantikan tempat etanol dengan cara mengisi kekosongan jaringan kulit menggunakan larutan yang dapat berikatan dengan paraffin, seperti xylol. Jaringan dipindahkan dari etanol absolut ke larutan xylol. Penjernihan dilakukan dalam larutan xylol I dan II masing-masing selama 1 jam, serta

dalam xylol III selama 30 menit pada suhu kamar dan 30 menit didalam inkubator.

4. *Embedding*

Embedding merupakan tahap keempat yang bertujuan untuk mengeluarkan *clearing agen* dari jaringan kulit, kemudian diganti dengan paraffin. *Embedding* dilakukan dengan cara memasukkan jaringan kulit ke dalam paraffin cair dan dibiarkan hingga memadat, kemudian dikeluarkan dengan cara *sectioning*.

5. *Sectioning*

Sectioning merupakan tahap kelima yang bertujuan untuk memotong jaringan kulit dan mengeluarkan dari blok paraffin dengan menggunakan mikrotom setebal 4 mikron secara melintang.

6. Penempelan pada *Objek Glass*

Tahap ini merupakan tahap terakhir sebelum dilakukan pewarnaan HE. Jaringan kulit yang telah dipotong, kemudian diletakkan pada poly-I-lysin slide. Selanjutnya, potongan yang terpilih dikeringkan dengan cara diletakkan di atas *hot plate* bersuhu 38-40°C hingga preparat kering.

4.6.6 Ekspresi *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) dengan Pewarnaan Imunohistokimia (IHK)

Langkah awal dari metode pewarnaan imunohistokimia, yaitu dengan perendaman slide preparat pada xylol I, II, dan ethanol dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 70%, 80%, 90%, dan 100%. Slide preparat kemudian dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit, ditetesi dengan H₂O₂ selama 20 menit. Langkah kedua, slide preparat dicuci lagi dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit

sebanyak 3 kali, diinkubasi dengan antibodi primer anti mouse FGF-2 selama 1 jam dengan suhu ruang, kemudian cuci kembali slide preparat dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Langkah ketiga, slide preparat diinkubasi dengan antibodi sekunder selama 1 jam dengan suhu ruang, kemudian cuci kembali slide preparat dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali.

Tahap keempat, slide preparat ditetesi dengan SA-HRP selama 40 menit, lalu cuci kembali slide preparat dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Langkah kelima, teteskan DAB selama 10 menit, dicuci kembali slide preparat dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Langkah keenam, lakukan *counterstaining* menggunakan Mayer Hematoxylen selama 10 menit, dicuci dengan air mengalir, serta lanjutkan dengan membilas slide preparat dengan akuades dan dikeringkan. Langkah terakhir, slide preparat di *mounting* dan ditutup dengan *cover glass*.

4.6.7 Jumlah Fibroblas dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)

Pewarnaan HE dilakukan dengan menggunakan zat pewarna hematoksilin dan eosin. Penggunaan pewarna hematoksilin ditujukan untuk memberikan warna biru pada inti sel (basofilik), sedangkan pewarna eosin ditujukan untuk memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung, serta memberikan warna merah muda.

Tahap pertama yang harus dilakukan untuk pewarnaan HE, yaitu memasukkan preparat pada larutan xylol 1, 2, dan 3 masing-masing selama 5 menit. Tahap kedua, preparat dimasukkan kedalam ethanol bertingkat dimulai dari konsentrasi bertingkat, yaitu absolut, 95%, 90%, 80%, dan 70% masing-masing selama 5 menit. Tahap ketiga, preparat dicuci dengan air mengalir selama 15

menit dan dilanjutkan dengan akuades selama 5 menit. Tahap empat dilakukan pewarnaan menggunakan Hematoksilin selama 10 menit, cuci dengan air mengalir selama 30 menit, dilanjutkan dengan akuades selama 5 menit, serta lakukan hal yang sama pada pewarna eosin. Tahap kelima, setelah dilakukan pewarnaan Hematoksilin dan eosin, preparat dimasukkan kedalam ethanol bertingkat dimulai dari konsentrasi bertingkat, yaitu 70%, 80%, 90%, dan 95% masing-masing selama beberapa detik, serta dilanjutkan dengan ethanol konsentrasi 100% I, II, dan III masing-masing selama 2 menit. Tahap terakhir, lakukan proses *clearing* dengan menggunakan xylol I, II, III masing-masing selama 3 menit dan tutup preparat dengan menggunakan *cover glass* (Dewi, 2011).

4.6.8 Cara Pengamatan

1. Ekspresi FGF-2

Pengamatan ekspresi FGF-2 pada lesi luka bakar dilakukan pada lima lapangan pandang yang berbeda dengan perbesaran 400x dibawah fotomikroskop Olympus seri XC10 yang dilengkapi dengan software OlyVIA (Viewer for Imaging Application). Selanjutnya, hasil pengamatan difoto dan diproses menggunakan *software immunoratio* untuk mengamati ekspresi FGF-2 yang ditandai dengan ada peningkatan presentasi luas daerah yang terwarnai (Warzecha, *et al.* 2004).

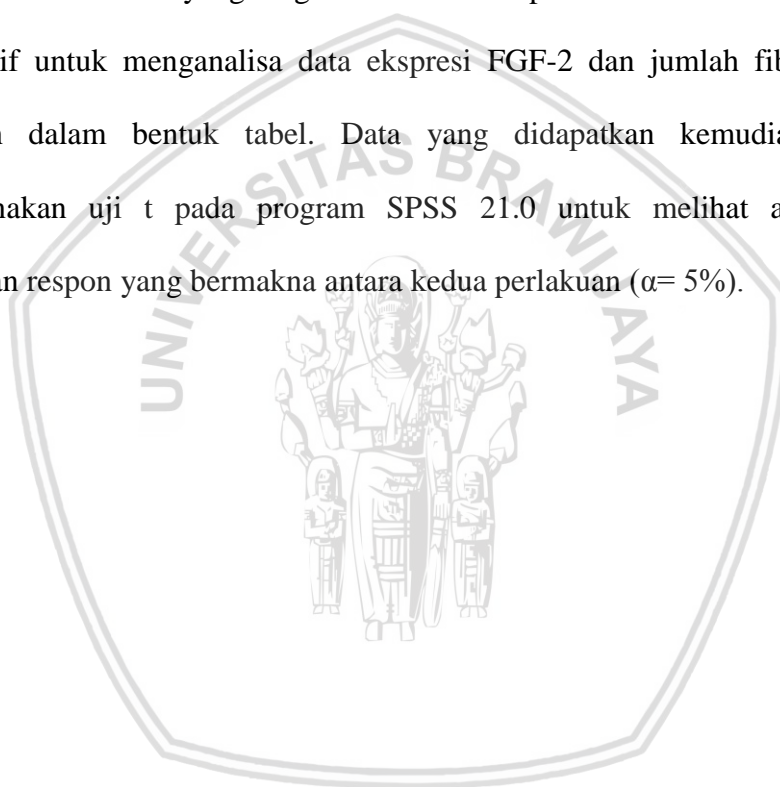
2. Jumlah Fibroblas

Pengamatan jumlah fibroblas pada lesi luka bakar dilakukan pada lima lapang pandang yang berbeda dengan perbesaran 400x dibawah fotomikroskop Olympus seri XC10 yang dilengkapi dengan software

OlyVIA (Viewer for Imaging Application). Perhitungan jumlah fibroblas pada lesi luka bakar dilakukan dengan cara menghitung jumlah total fibroblas yang teramati pada lima lapangan pandang yang berbeda dengan perbesaran 400x menggunakan *image raster* (Nurdiana, dkk., 2016).

4.6.9 Analisa Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini berupa analisis kuantitatif untuk menganalisa data ekspresi FGF-2 dan jumlah fibroblas yang disajikan dalam bentuk tabel. Data yang didapatkan kemudian dianalisa menggunakan uji t pada program SPSS 21.0 untuk melihat ada tidaknya perbedaan respon yang bermakna antara kedua perlakuan ($\alpha=5\%$).



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

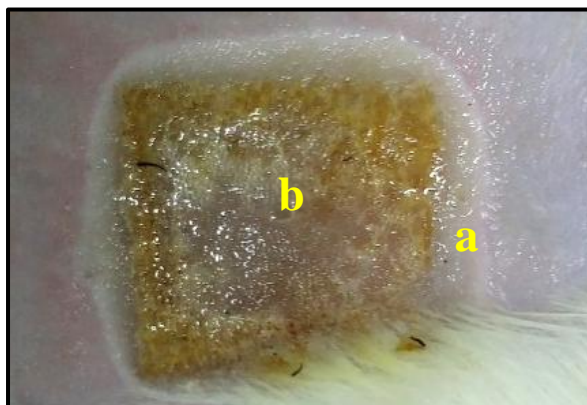
Penelitian telah dilakukan untuk mengetahui “Perbedaan Efek Terapi Salep *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan Gel Ekstrak Plasenta terhadap Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Ditinjau dari Ekspresi FGF-2 dan Jumlah Fibroblas”. Hewan coba tikus putih (*Rattus novergicus*) strain *Wistar* berjenis kelamin jantan, berumur 75-90 hari, dengan berat badan 150-200 gram. Tikus putih (*Rattus novergicus*) dibagi menjadi 2 kelompok, dimana setiap kelompok terdiri dari 9 ekor tikus putih (*Rattus novergicus*). Kelompok perlakuan satu (P1) yang diberi terapi salep VCO, dan kelompok perlakuan dua (P2) yang diberi terapi gel ekstrak plasenta.

5.1 Gambaran Makroskopis Hasil Pembuatan Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*)

Tikus putih (*Rattus novergicus*) diberi perlakuan berupa luka bakar derajat II B, dengan cara menempelkan *solder* yang telah dimodifikasi dengan plat besi berukuran 2x2 dan dipanaskan selama 5 menit hingga mencapai suhu 100-150°C pada daerah *flank* tikus selama 10 detik (Akbari, *et al.* 2015; Abdeldjeil, 2017). Akibat paparan suhu tinggi sekitar 100-150°C selama 10

detik menimbulkan kerusakan pada kulit. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan gambaran makroskopis pada zona statis dan zona koagulasi luka. Zona statis merupakan daerah luka yang langsung berada diluar zona koagulasi. Zona statis terbentuk akibat ada kerusakan endotel disertai kerusakan trombosit dan leukosit serta perubahan permeabilitas kapiler dan respon inflamasi lokal yang beresiko pada iskemia jaringan. Zona koagulasi merupakan daerah luka yang berada dibagian tengah luka bakar dan berkontak langsung dengan sumber panas. Zona koagulasi, terdiri dari jaringan nekrosis yang membentuk keropeng akibat ada denaturasi protein pada lapisan kulit (Hettiaratchy *and* Dziewulski, 2004).

Berdasarkan gambaran makroskopis yang diamati, kerusakan yang ditimbulkan ditandai dengan ada bula (gelembung air) pada zona statis. Bula yang timbul berisi cairan serous yang merupakan bentuk dari peningkatan permeabilitas vaskuler, sehingga menyebabkan cairan intravaskuler keluar dan tertumpuk diluar jaringan (Mansjoer, 1999). Beberapa rambut sisa pencukuran terbakar, warna kulit putih tanpa eskar, dan kecoklatan pada beberapa bagian yang menandakan ada nekrosis pada jaringan kulit (**Gambar 5.1**). Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mawarsari (2015); Simanjuntak (2008), dimana kulit setelah pembuatan luka bakar derajat II akan menunjukkan perubahan warna menjadi putih tanpa ada eskar, dan terbentuk bula (gelembung air).



Gambar 5.1 Gambaran Makroskopis Kulit setelah Pembuatan Luka Bakar Derajat II B

Keterangan : a) Bula pada zona statis
b) Nekrosis

5.1.1 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B Setelah Terapi Salep *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan Gel Ekstrak Plasenta Pada Hari Ke-3

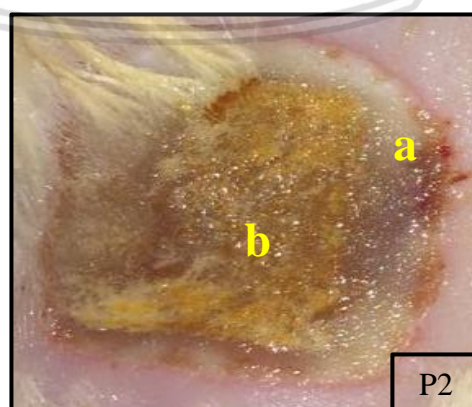
Pengamatan gambaran makroskopis luka bakar derajat II B pada hari ke-3 setelah diberikan terapi berupa salep VCO dan gel ekstrak plasenta pada masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan ada sedikit perbedaan. Gambaran makroskopis pada kelompok P1 (kelompok tikus putih (*Rattus novergicus*) luka bakar derajat II B dan diterapi salep VCO) menunjukkan zona statis berwarna kemerahan dan mulai ditumbuhi rambut, serta pada zona koagulasi mulai terbentuk keropeng ditandai dengan perubahan warna luka menjadi kecoklatan (**Gambar 5.2**). Keropeng terbentuk akibat ada denaturasi protein pada lapisan kulit dan hal tersebut menunjukkan dimulainya fase proliferasi penyembuhan luka (Orgil, 2009). Pada kelompok P1 sudah mulai memasuki fase proliferasi. Gambaran makroskopis pada kelompok P2 (kelompok tikus putih (*Rattus novergicus*) luka bakar derajat II B dan diterapi gel ekstrak plasenta) masih menunjukkan inflamasi yang ditandai dengan

warna merah pada zona statis dan zona koagulasi, serta mulai tumbuh rambut pada zona statis (**Gambar 5.3**). Warna kemerahan yang ditunjukkan pada kedua kelompok perlakuan merupakan hasil dari proses peradangan luka disebabkan oleh pelebaran pembuluh darah dan peningkatan aliran darah arteri ke jaringan yang rusak (Balqis dkk., 2016). Pada kelompok P2 masih berada pada fase inflamasi.



Gambar 5.2 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B yang Diterapi Salep VCO pada Hari Ke-3

Keterangan : a) Zona statis, berwarna kemerahan, mulai tumbuh rambut baru
b) Zona koagulasi, mulai berwarna kecoklatan, keropeng mulai terbentuk

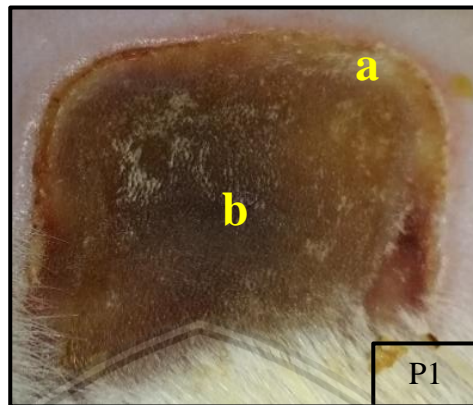


Gambar 5.3 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B yang Diterapi Gel Ekstrak Plasenta pada Hari He-3

Keterangan : a) Zona statis, berwarna kemerahan, mulai tumbuh rambut baru b) Zona koagulasi, keropeng belum terbentuk

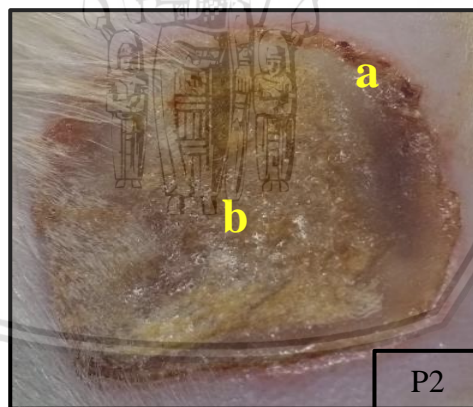
5.1.2 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B Setelah Terapi Salep Virgin Coconut Oil (VCO) dan Gel Ekstrak Plasenta Pada Hari Ke-5

Pengamatan gambaran makroskopis luka bakar derajat II B pada hari ke-5 setelah diberikan terapi berupa salep VCO dan gel ekstrak plasenta pada masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan perubahan yang relatif sama. Gambaran makroskopis pada tikus kelompok P1 (kelompok tikus putih (*Rattus novergicus*) luka bakar derajat II B dan diterapi salep VCO) menunjukkan keropeng (jaringan parut) yang tebal dan kasar telah terbentuk pada zona koagulasi dan zona statis, serta rambut pada zona koagulasi mulai tumbuh dan pada zona statis terlihat lebih banyak dari hari ke-3 (**Gambar 5.4**). Zona statis dan koagulasi kelompok P1 tampak lebih kecoklatan karena pembentukan keropeng pada kelompok P1 terjadi lebih dulu, yaitu hari ke-3. Pada kelompok P1 masih berada pada fase proliferasi. Gambaran makroskopis pada kelompok P2 (kelompok tikus (*Rattus novergicus*) luka bakar derajat II B dan diterapi gel ekstrak plasenta) tidak berbeda jauh dengan kelompok P1, dimana mulai terbentuk keropeng yang tebal dan kasar pada zona koagulasi dan zona statis, serta rambut pada zona koagulasi mulai tumbuh dan pada zona statis terlihat lebih banyak dari hari ke-3 (**Gambar 5.5**). Keropeng terbentuk akibat ada denaturasi protein pada lapisan kulit dan hal tersebut menunjukkan dimulainya fase proliferasi penyembuhan luka (Orgil, 2009). Pada kelompok P2 mulai masuk pada fase proliferasi.



Gambar 5.4 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B yang Diterapi Salep VCO pada Hari Ke-5

Keterangan : a) Zona statis, tampak keropeng yang tebal dan kasar, rambut yang tumbuh lebih banyak
b) Zona koagulasi, tampak korepeng yang tebal dan kasar, mulai tumbuh rambut. Luka tampak lebih kecoklatan

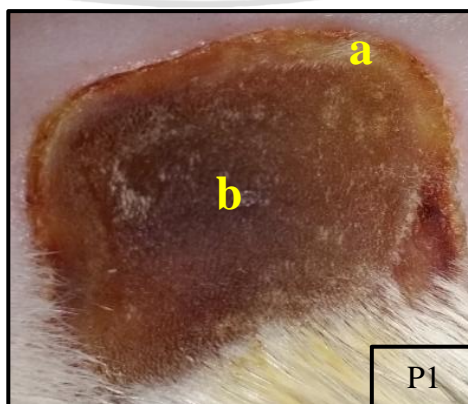


Gambar 5.5 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B yang Diterapi Gel Ekstrak Plasenta pada Hari Ke-5

Keterangan : a) Zona statis, mulai terbentuk korepeng yang tebal dan kasar, rambut yang tumbuh lebih banyak
b) Zona koagulasi, mulai terbentuk keropeng yang tebal dan kasar, mulai tumbuh rambut

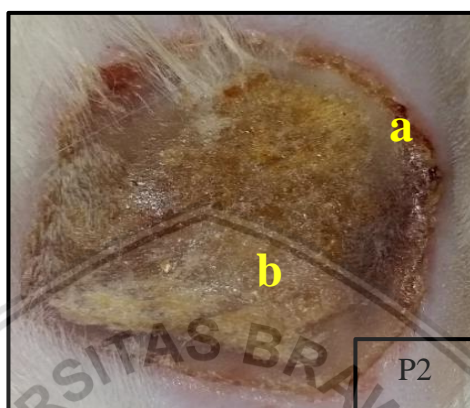
5.1.3 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B Setelah Terapi Salep *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan Gel Ekstrak Plasenta Pada Hari Ke-7

Pengamatan gambaran makroskopis luka bakar derajat II B pada hari Ke-7 setelah diberikan terapi berupa salep VCO dan gel ekstrak plasenta pada masing-masing kelompok perlakuan tidak memperlihatkan perubahan yang berbeda jauh dari hari sebelumnya, baik kelompok P1 maupun P2. Gambaran makroskopis pada kelompok P1 (kelompok tikus putih (*Rattus novergicus*) luka bakar derajat II B dan diterapi salep VCO) menunjukkan luka masih berwarna kecoklatan, keropeng pada zona statis dan zona koagulasi tampak lebih jelas, serta belum terlihat adanya pengecilan luka (**Gambar 5.6**). Pada kelompok P1 masih berada pada fase proliferasi. Gambaran makroskopis pada kelompok P2 (kelompok tikus putih (*Rattus novergicus*) luka bakar derajat II B dan diterapi gel ekstrak plasenta) tidak berbeda jauh dari kelompok P1, dimana keropeng pada zona statis dan zona koagulasi terlihat lebih jelas dari hari sebelumnya, dan belum terlihat ada pengecilan luka (**Gambar 5.7**). Pada kelompok P2 masih berada pada fase proliferasi.



Gambar 5.6 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B yang Diterapi pada Hari Ke-7

Keterangan : a) Zona statis, korepeng tampak lebih jelas
b) Zona koagulasi, keropeng tampak lebih jelas. Belum terlihat pengecilan luka



Gambar 5.7 Gambaran Makroskopis Luka Bakar Derajat II B yang Diterapi pada Hari Ke-7

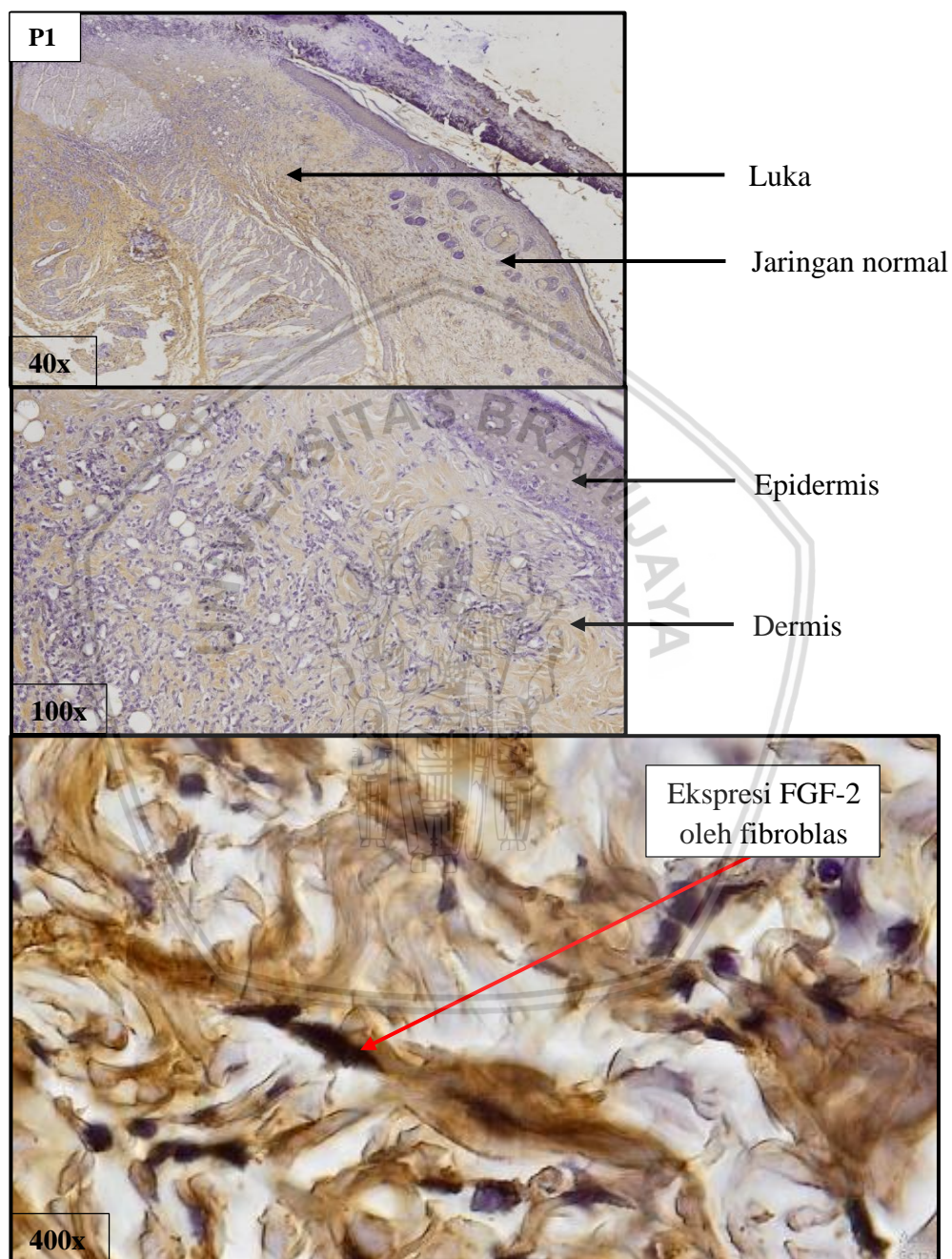
Keterangan : a) Zona statis
b) Zona koagulasi. Tidak ada perubahan yang berbeda jauh dari hari ke-5, belum terlihat pengecilan luka

5.2 Perbedaan Efek Terapi Salep *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan Gel Ekstrak Plasenta terhadap Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) ditinjau dari Ekspresi FGF-2

Data hasil penelitian berupa ekspresi FGF-2 didapatkan dari pembuatan preparat histopatologi dengan menggunakan metode IHK. Jaringan yang digunakan berasal dari kulit tikus putih (*Rattus novergicus*) model luka bakar derajat II B yang diterapi selama tujuh hari berturut-turut dengan salep VCO dan gel ekstrak plasenta. Preparat tersebut dibuat pada hari kedelapan setelah pembuatan luka. Ekspresi FGF-2 dihitung pada lima lapang pandang yang berbeda dengan perbesaran 400x dibawah mikroskop Olympus seri XC10 yang dilengkapi dengan software OlyVIA (*Viewer for Imaging Application*). Selanjutnya, hasil pengamatan difoto dan diproses menggunakan *software*

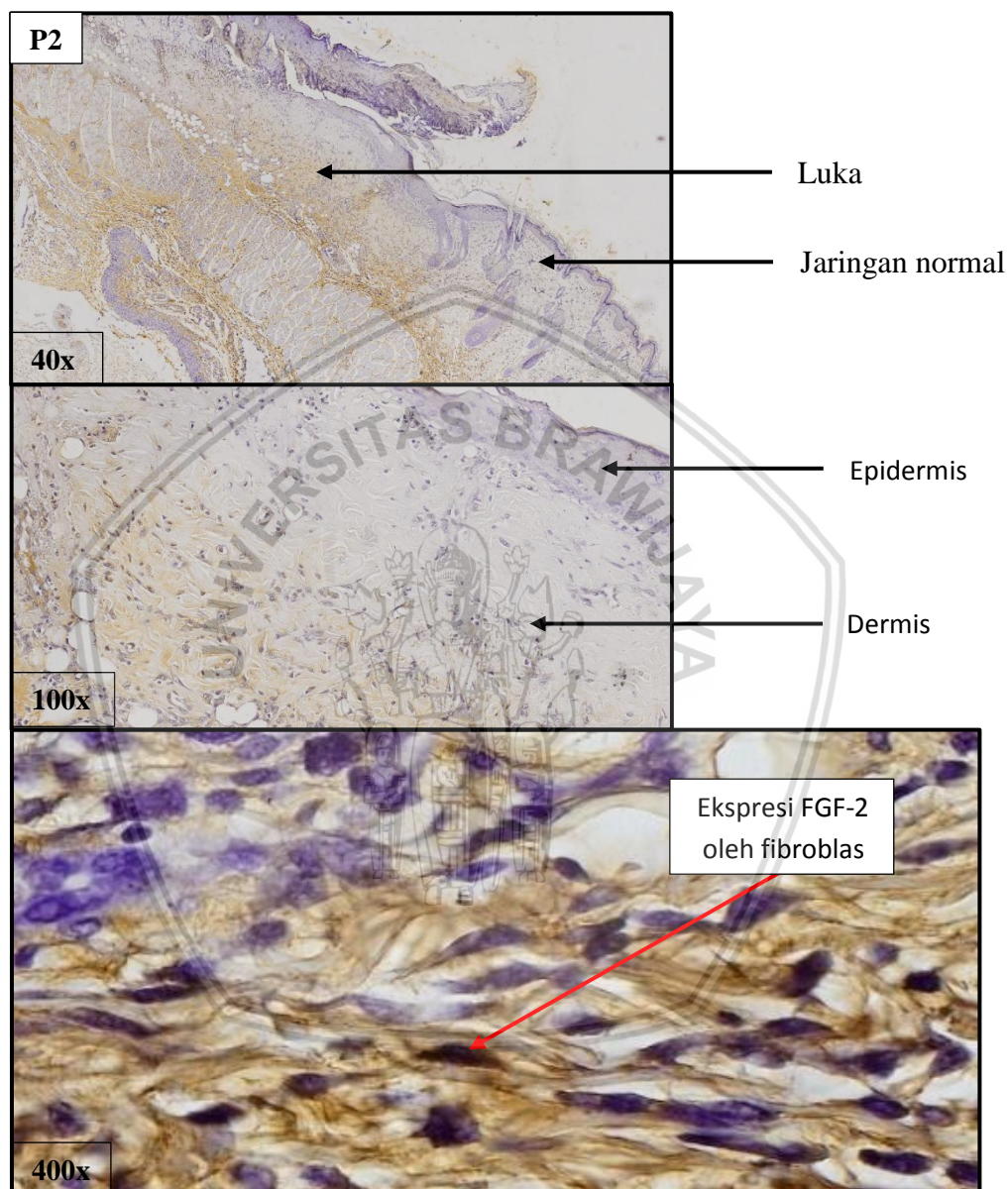
immunoratio untuk mendapatkan persentase area ekspresi FGF-2 setiap ulangan pada masing-masing kelompok perlakuan. Data yang didapatkan kemudian dianalisis secara kuantitatif menggunakan uji t pada program SPSS 21.0.

Secara histopatologi, ekspresi FGF-2 dapat diamati pada sitoplasma dan inti fibroblas melalui pewarnaan IHK dengan menggunakan antibodi monoklonal FGF-2. Imunohistokimia (IHK) bekerja melalui interaksi antara antigen dan antibodi. Antibodi FGF-2 tersebar disepanjang berkas serat kolagen yang ada pada lapisan dermis kulit dan tampak sebagai sel fusiform (gelondong) dengan ujung runcing. Fibroblas memiliki inti lonjong dan panjang, mengandung satu atau dua nukleus, dan gumpalan kromatin halus berdekatan dengan selaput inti (Bloom *and* Fawcet, 2002). Ekspresi FGF-2 ditunjukkan dengan warna coklat yang berada pada bagian dermis (lihat. **Gambar 5.8; 5.9**).



Gambar 5.8 Ekspresi FGF-2 pada Kelompok Perlakuan Salep VCO dengan Perbesaran 40x, 100x dan 400x Menggunakan Metode Imunohistokimia

Keterangan : Ekspresi FGF-2 oleh fibroblas ditunjukkan dengan panah merah ()



Gambar 5.9 Ekspresi FGF-2 pada Kelompok Perlakuan Gel Ekstrak Plasenta dengan Perbesaran 40x, 100x dan 400x Menggunakan Metode Imunohistokimia

Keterangan : Ekspresi FGF-2 oleh fibroblas ditunjukkan dengan panah merah ()

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah ekspresi FGF-2 menggunakan *software immunoratio*, didapatkan data dan dilakukan uji t, sehingga didapatkan hasil jumlah rata-rata persentase ekspresi FGF-2 sebagai berikut (lihat. **tabel 5.1**) dengan output uji t pada **Lampiran 7**:

Tabel 5.1 Rata-rata Prosentase Ekspresi FGF-2

Perlakuan	Rata-rata Prosentase Ekspresi FGF-2± SD	Sig. (2- tailed)
P1 (terapi salep VCO)	93.3067±6.83445	.424
P2 (terapi gel ekstrak plasenta)	90.8873±5.62060	

Data dari tabel diatas menunjukkan bahwa hasil uji t untuk ekspresi FGF-2 pada kedua kelompok perlakuan tidak memberikan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) dilihat dari nilai sig.(2-tailed) yang berarti bahwa tidak terdapat perbedaan ekspresi FGF-2 secara bermakna. Rata-rata prosentase ekspresi FGF-2 tertinggi terdapat pada kelompok P1, yaitu kelompok yang diberi terapi salep VCO dengan jumlah ekspresi FGF-2 sebesar 93.3067 ± 6.83445 , sedangkan jumlah ekspresi FGF-2 pada kelompok P2 yang diberi terapi gel ekstrak plasenta sebesar 90.8873 ± 5.62060 . Ekspresi FGF-2 yang tinggi pada kelompok P1 menunjukkan fase inflamasi yang lebih singkat sehingga dapat segera masuk ke fase berikutnya, yaitu fase proliferasi.

Salep VCO yang digunakan sebagai terapi kelompok P1 memiliki kandungan asam laurat, *tokoferol*, *flavonoid*, dan *phytosterol* yang memiliki sifat imunomodulator, antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, dan antiviral. Kandungan *tokoferol*, *flavonoid*, dan *phytosterol* bekerja sebagai antioksidan

dan antiinflamasi dengan cara menghambat kaskade arakidonat dan menghambat permeabilitas kapiler, sehingga hal tersebut dapat menurunkan pelepasan mediator radang, seperti *prostaglandin* sehingga akan mengurangi rasa nyeri, edema, vasodilatasi pembuluh darah, dan tidak memperpanjang fase inflamasi pada proses penyembuhan luka. Asam laurat yang terkandung dalam VCO berfungsi sebagai imunomodulator yang dapat mengaktifasi makrofag. Makrofag yang teraktivasi akan melakukan fagositosis, memproduksi sitokin, melakukan perbaikan jaringan (*fibroblast stimulating factor*, *fibronectin kolagenase*), dan memproduksi *growth factor*, salah satunya adalah FGF-2 (Widyastomo et.al, 2013). Ekspresi FGF-2 memiliki pengaruh amat besar terhadap perkembangan jaringan granulasi, proliferasi fibroblas dan angiogenesis (Putri dan Tasminatun, 2012). Semakin banyak fibroblas yang dihasilkan akan mempercepat proses kesembuhan luka. *Virgin coconut oil* (VCO) juga memiliki kandungan asam laurat yang berfungsi sebagai imunomodulator, antibakteri, antivirus, dan antifungal. Didalam tubuh asam laurat akan diubah menjadi monolaurin, yaitu sebuah senyawa monogliserida yang dapat merusak struktur *lipid bilayer* virus dan membran sel bakteri, sehingga bakteri akan mati dan kulit yang mengalami luka bakar derajat II B dapat dilindungi dari infeksi (Setiaji dan Prayugo, 2006).

Ekstrak plasenta yang digunakan sebagai terapi kelompok P2 memiliki aktivitas antiinflamasi dengan cara menghambat kaskade asam arakidonat, khususnya pada jalur siklooksigenase dan berpengaruh terhadap produksi prostaglandin. Hal tersebut menurunkan aktivitas makrofag dan produksi

ROS, sehingga menekan laju inflamasi (Gupta et.al, 2016). Kandungan lain yang terkandung dalam gel ekstrak plasenta, yaitu neomisin sulfat 0,5%. Neomisin sulfat 0,5% bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri melalui ikatan ribosom subunit 30s untuk mencegah terjadi infeksi bakteri pada daerah luka (Wientarsih dkk., 2017).

Pada kelompok P1 maupun P2 sudah berada pada fase proliferasi ditandai dengan diekspresikan FGF-2 pada fibroblas. Rata-rata persentase ekspresi FGF-2 pada kelompok P1 lebih tinggi dibanding kelompok P2. Hal tersebut dapat terjadi akibat VCO memiliki kandungan yang lebih kompleks, dimana selain berfungsi sebagai antiinflamasi dan antibakteri seperti gel ekstrak plasenta, VCO juga berfungsi sebagai imunomodulator, antioksidan, dan antivirus sehingga VCO dapat bekerja dengan baik dalam mempercepat kesembuhan luka bakar derajat II B.

5.3 Perbedaan Efek Terapi Salep *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan Gel Ekstrak Plasenta terhadap Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) ditinjau dari Jumlah Fibroblas

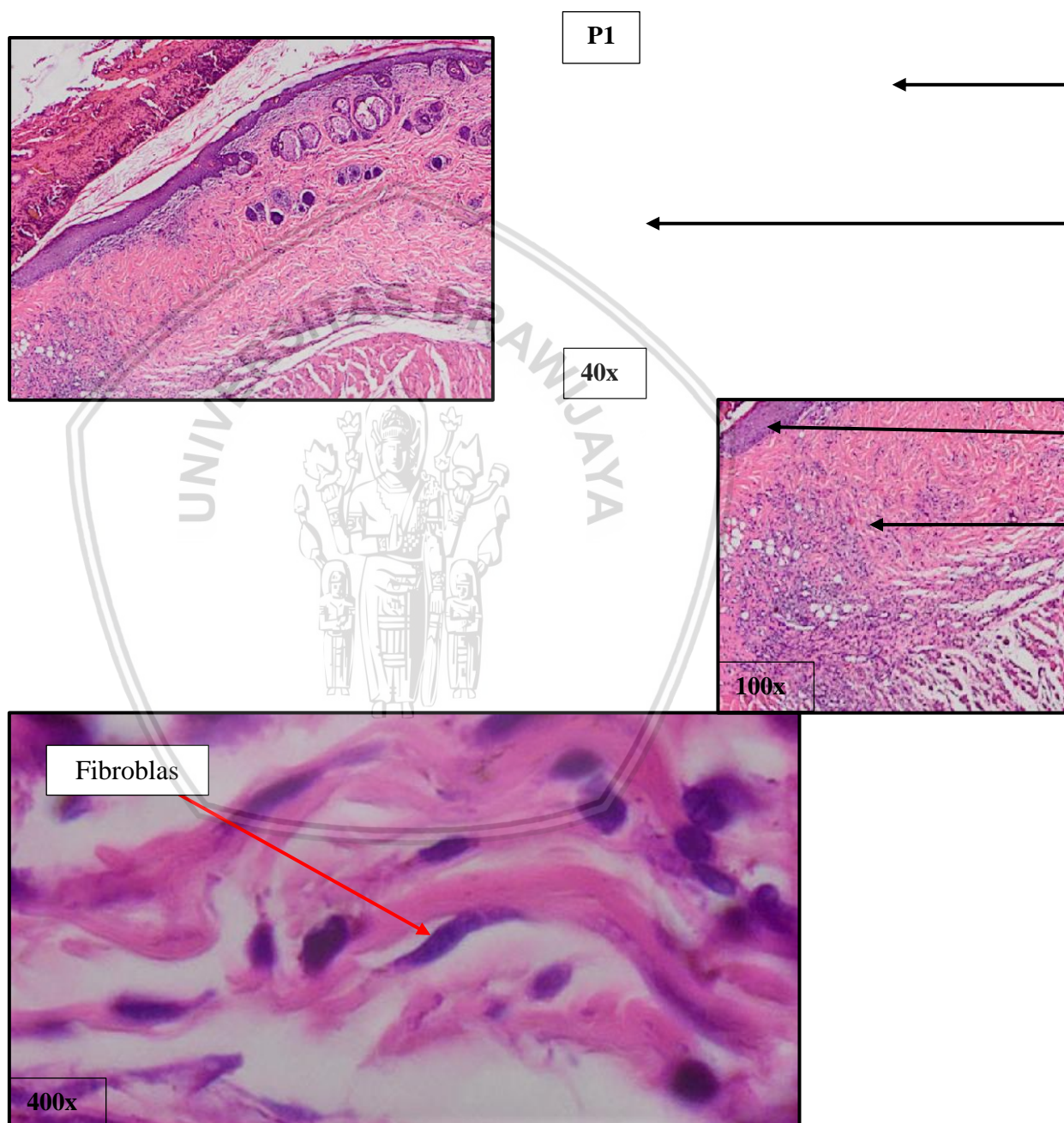
Data hasil penelitian berupa jumlah fibroblas pada preparat histopatologi dengan menggunakan pewarnaan HE. Jaringan yang digunakan berasal dari jaringan kulit tikus putih (*Rattus novergicus*) model luka bakar derajat II B yang diterapi selama tujuh hari berturut-turut dengan salep VCO dan gel ekstrak plasenta. Preparat tersebut dibuat pada hari kedelapan setelah pembuatan luka. Jumlah fibroblas dihitung pada lima lapang pandang yang berbeda dengan perbesaran 400x dibawah mikroskop Olympus seri XC10

yang dilengkapi dengan software OlyVIA (*Viewer for Imaging Application*). Selanjutnya, jumlah fibroblas dihitung secara manual dengan menggunakan *image raster* 3.0. Data yang didapatkan dianalisis secara kuantitatif menggunakan uji t pada program SPSS 21.0.

Secara histopatologi, fibroblas dapat diamati pada lapisan dermis kulit dan dihitung dengan karakteristik sel tampak fusiform (gelondong) dengan ujung runcing, memiliki inti lonjong dan panjang, mengandung satu atau dua *nucleolus*, dan gumpalan kromatin halus berdekatan dengan selaput inti (Bloom and Fawcett, 2002). Pada pemeriksaan preparat histopatologi, batas sel tidak terlihat nyata sehingga bentukan nukleus dari fibroblas dijadikan pedoman untuk mengidentifikasi. Nukleus yang dimiliki fibroblas berbentuk lonjong dengan satu atau dua *nucleolus* yang jelas serta dilengkapi dengan sedikit kromatin halus (**Gambar 5.10; 5.11**).

Pada kasus luka bakar, fibroblas akan bekerja lebih aktif sebagai agen utama dalam proses penyembuhan luka dengan cara bermigrasi ke daerah luka dan melakukan proliferasi. Fibroblas kemudian akan mensintesis komponen matriks ekstraseluler dari jaringan ikat, terutama serat kolagen yang berada pada bagian dermis kulit dalam jumlah yang besar (Brown and Burns, 2005). Fibroblas akan mensekresikan molekul tropokolagen kecil yang akan bergabung untuk membentuk serat kolagen. Kolagen yang terbentuk akan memberikan kekuatan dan integritas pada semua luka sehingga luka dapat sembuh dan tertutup dengan baik (Sumbayak, 2016). Kolagen juga

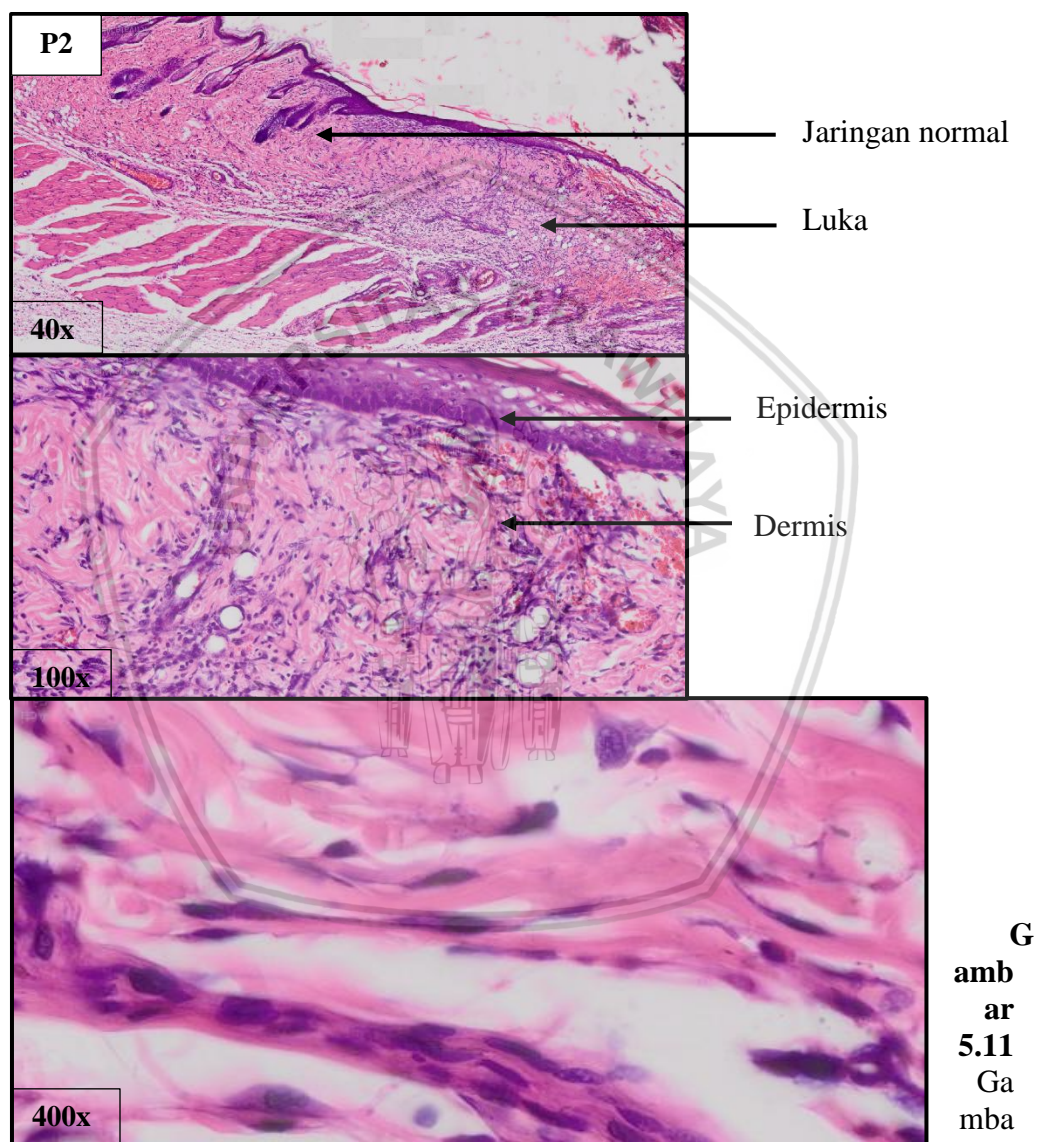
akan bekerja sama dengan fibroblas untuk membentuk jaringan granulasi (Balqis, 2016).



Gambar 5.10 Gambaran Histopatologi Fibroblas pada Kelompok Perlakuan Salep VCO dengan Perbesaran 40x, 100x dan 400x Menggunakan Pewarnaan Hematoksilin Eosin



Keterangan : Fibroblas ditunjukkan dengan panah merah (). Terjadi proliferasi fibroblas.



Histopatologi Fibroblas pada Kelompok Perlakuan Gel Ekstrak Plasenta dengan Perbesaran 40x, 100x dan 400x Menggunakan Pewarnaan Hematoksilin Eosin

Keterangan : Fibroblas ditunjukkan dengan panah merah (). Terjadi proliferasi fibroblas.

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah fibroblas menggunakan *image raster*, didapatkan jumlah rata-rata fibroblas sebagai berikut (**tabel 5.2**) dengan output uji t pada **Lampiran 8**:

Tabel 5.2 Rata-rata Fibroblas

Perlakuan	Rata-rata SD	Fibroblas± SD	Sig. (2-tailed)
P1 (terapi salep VCO)	23.8444±11.86498		.898
P2 (terapi gel ekstrak plasenta)	23.2889±4.70118		

Data dari tabel diatas menunjukkan bahwa hasil uji t untuk jumlah fibroblas pada kedua kelompok perlakuan baik kelompok P1 maupun P2 tidak memberikan perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) dilihat dari nilai sig.(2-tailed) yang berarti bahwa tidak terdapat perbedaan jumlah fibroblas secara bermakna. Rata-rata jumlah fibroblas tertinggi terdapat pada kelompok P1, yaitu kelompok yang diberi terapi salep VCO dengan jumlah fibroblas sebesar 23.8444 ± 11.86498 , sedangkan jumlah fibroblas pada kelompok P2 yang diberi terapi gel ekstrak plasenta sebesar 23.2889 ± 4.70118 . Jumlah fibroblas yang tinggi pada kelompok P1 akan bebanding lurus dengan jumlah serat kolagen yang dihasilkan sehingga hal tersebut dapat mempercepat proses kesembuhan luka.

Virgin coconut oil (VCO) mengandung *Medium Chain Triglyceride* (MCT) berupa asam laurat, flavonoid, dan tokoferol yang berfungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan, sehingga dapat berperan dalam mencegah terjadi infeksi, kerusakan sel yang berlebihan pada luka dan mempercepat fase inflamasi sehingga sesegera mungkin dapat masuk ke

fase berikutnya, yaitu fase proliferasi (Tamara dkk., 2014). Asam laurat yang terkandung dalam VCO diketahui dapat menstimulasi proliferasi fibroblas melalui pembentukan gumpalan benang fibrin oleh fibronectin. Gumpalan benang fibrin yang terbentuk, selanjutnya akan menjadi kerangka re-epitelisasi dan proliferasi fibroblas. Fibroblas yang dihasilkan akan menghasilkan kolagen yang membantu proses penyembuhan luka (Sumbayak, 2016). Selain itu, *tokoferol* yang terkandung dalam VCO bekerja secara langsung terhadap aktivasi fibroblas dan sel keratinosit, sehingga secara optimal akan berpengaruh terhadap laju re-epitelisasi dan proses proliferasi sel menjadi cepat dan optimal (Hobson, 2014).

Gel ekstrak plasenta merupakan obat topikal standar yang dapat diberikan pada luka bakar. Obat ini memiliki sifat antibakteri yang diperankan oleh neomisin sulfat 0,5% yang terkandung didalam. Neomisin sulfat 0,5% bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri melalui ikatan ribosom subunit 30s untuk mencegah terjadinya infeksi bakteri pada daerah luka (Wientarsih dkk., 2017). Kandungan lain yang terkandung dalam gel ekstrak plasenta, yaitu ekstrak plasenta 10%. Ekstrak plasenta 10% bekerja dengan cara mempercepat regenerasi sel melalui peningkatan kadar VEGF dan merangsang sirkulasi darah pada area luka. Ekstrak plasenta juga diketahui mampu mempercepat proliferasi sel-sel yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka, termasuk fibroblas. Fibroblas kemudian akan mensintesis serat kolagen yang berada pada bagian dermis kulit dalam jumlah yang besar (Brown and Burns, 2005).

Kolagen yang terbentuk akan memberikan kekuatan dan integritas pada semua luka, sehingga luka dapat sembuh dan tertutup dengan baik (Sumbayak, 2016).

Perlakuan yang diberikan pada kelompok P1 dan kelompok P2, yaitu salep VCO dan gel ekstrak plasenta, sama-sama mengandung zat yang mampu mempercepat penyembuhan luka meskipun tingkat efektivitas VCO sedikit lebih tinggi dibandingkan gel ekstrak plasenta. Hal tersebut dapat terjadi karena VCO memiliki kandungan yang lebih kompleks dimana selain berfungsi sebagai antiinflamasi dan antibakteri, seperti gel ekstrak plasenta, VCO juga berfungsi sebagai imunomodulator, antioksidan, dan antivirus, sehingga VCO dapat bekerja dengan baik dalam mempercepat kesembuhan luka bakar derajat II B.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah dipaparkan dapat ditarik kesimpulan :

1. Terapi salep VCO pada luka bakar derajat II B berdasarkan ekspresi FGF-2 tidak memberikan perbedaan efek dengan gel ekstrak plasenta.
2. Terapi salep VCO pada luka bakar derajat II B berdasarkan jumlah fibroblas tidak memberikan perbedaan efek dengan gel ekstrak plasenta.

6.2 Saran

Saran yang dapat diambil dari penelitian ini, yaitu dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek terapi VCO pada luka bakar derajat II B dengan lama terapi yaitu 14 hari, dan 21 hari. Data yang didapatkan kemudian dibandingkan dengan hasil penelitian ini yang menggunakan lama terapi, yaitu 7 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, K.A., A.H. Lichtman, and S. Pillai. 2007. *Cellular and Molecular Immunology 6th Ed.* Saunders, USA.
- Abdeldjelil, M.C., A. Messai, A. Boudebza, and S. Beghoul. 2017. *Practical Aspects to Generate Cunateous Experimental Burns in a Rat Model*. Der Pharmacia Lettre, 9(1) : 70-84.
- Akbari, H., M.J. Fatemi, M. Iranpour, A. Khodarahmi, M. Baghaee, M.S. Pedram, S. Saleh, and S. Araghi. 2015. *The Healing Effect of Nettle Extract on Second Degree Burn Wounds*. Kerman University of Medical Sciences, 4(1) : 23-28.
- Akita, S. 2013. *Basic Fibroblast Growth Factor in Scar Management*. Nagasaki University : Japan.
- Amaliya, S., B. Soemantri, dan Y.W. Utami. 2013. *Efek Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica) dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Terkontaminasi pada Tikus Putih (Rattus novergicus) Galur Wistar*. Jurnal Ilmu Keperawata, 1(1) : 19-25.
- Arisanty, I.P. 2014. *Konsep Dasar : Manajemen Perawatan Luka*. Penerbit Buku Kedokteran, EGC.
- Arundina, I., dan K. Suardita. 2014. *Efek Pegagan (Centella asiatica L) terhadap Proliferasi Mesenchymal Stem Cell*. Dentofasial, 13 (1) : 43-47.
- Balqis, U., Rasmaidar, dan Marwiyah. 2014. *Gambaran Histopatologis Penyembuhan Luka Bakar Menggunakan Daun Kedondong (Spondias dulcis F) dan Minyak Kelapa Pada Tikus Putih (Rattus novergicus)*. Jurnal Medika Veteriner, 8(1) : 31-36.
- Balqis, U., Frengky, N. Azzahrawani, Hamdani, D. Aliza, dan T. Armansyah. 2016. *Efikasi Mentimun (Cucumis sativus L). terhadap Percepatan Penyembuhan Luka Bakar Derajat II B Pada Tikus Putih (Rattus novergicus)*. Jurnal Medika Veteriner, 10 (2) : 90-93.

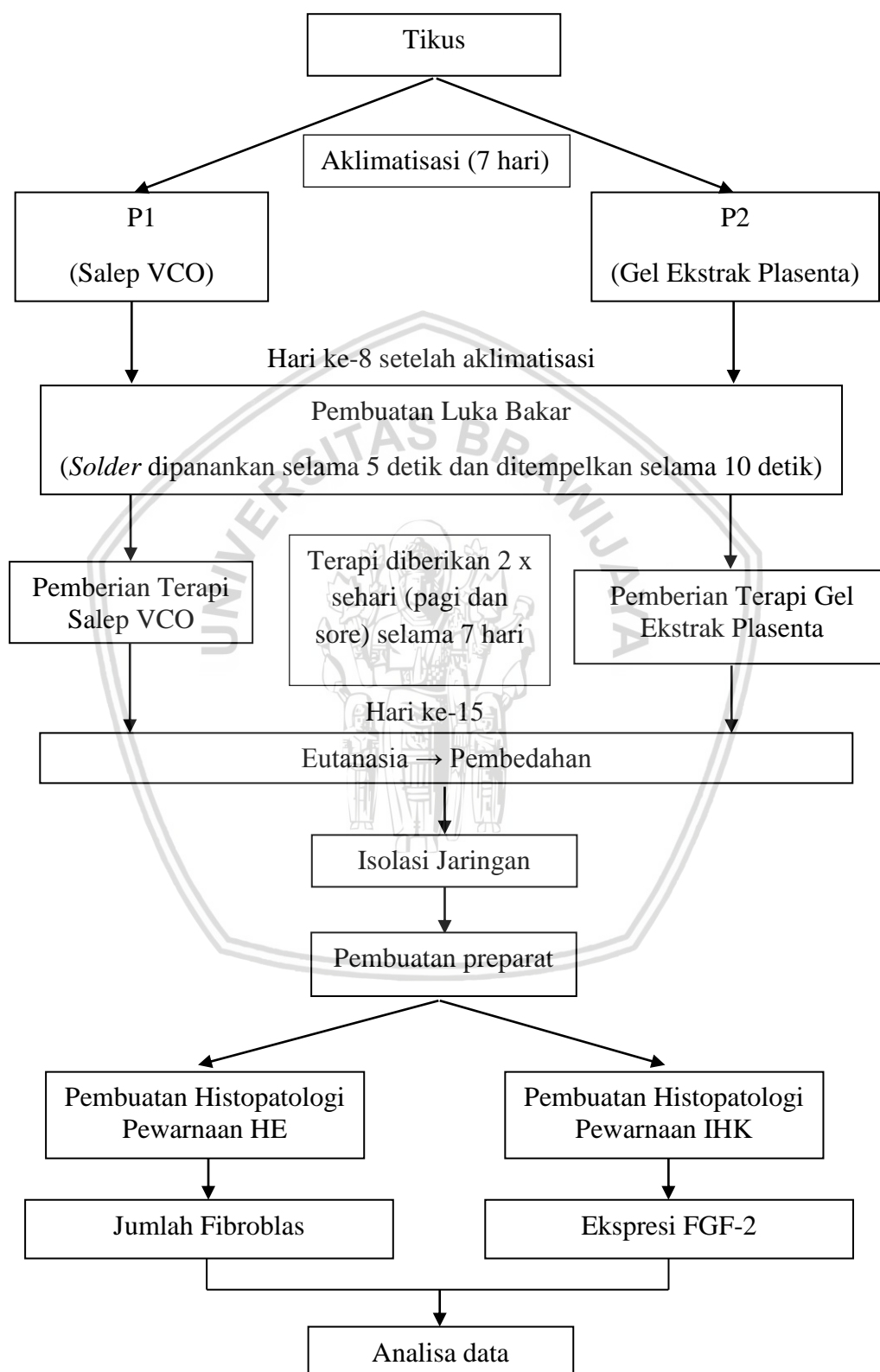
- Bloom and Fawcett. 2002. *Buku Ajar Histologi*, Edisi 12. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran, EGC.
- Brown, R.G., and T. Burns. 2005. *Lecture Notes Dermatologi*. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Burhanudin, F.N. 2014. *Uji Efektifitas Formulasi Gel Ekstrak Daun Cermat terhadap Lama Kesembuhan Luka Bakar pada Kelinci Jantan* [Skripsi]. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Ngudi Waluyo : Semarang.
- Choi, M, H. Lee, P. Naidansaren, H.K. Kim, O. Eunju, and J.H. Cha. 2013. *Proangiogenic Features of Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stromal/Stem Cells; and Their Ability to Form Functional Vessels*. The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 45(3) : 560-570.
- Cotton, L.M., M.K. O'Bryan, and B.T. Hinton. 2008. *Cellular Signaling by Fibroblast Growth Factors (FGFs) and Their Receptors (FGFRs) in Male Reproduction*. Endocrine rev, 29 : 193-216.
- Dealey, C., and J. Cameron. 2008. *Wound Management*. West Sussex: Wiley-Blackwell.
- Febrianto, R., N. Farhanah, dan E.P. Sari. 2016. *Hubungan Luka Bakar Derajat Sedang dan Berat Menurut Kategori American Burn Association dan Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kejadian Sepsis di RSUP Dr. Kariadi*. Jurnal Kedokteran Diponegoro, 5(4) : 1526-1534.
- Grazul, A.T., M.L Johnson, J.J. Bilski, D.A. Redmer, L.P. Reynolds, A. Abdullah, and K.M Abdullah. 2003. *Wound Healing : The Role of Growth Factors*. Prous Science, 39 (10) : 787-800.
- Gupta, V., A. Sinha, Jithendra, S. S. Chauhan, S. Singh. 2016. Placenta Extract the Magical Wound Healer, Next Milestone in the Healing Periodontal Surgery. *Journal of Dental and Medical Sciences*, PP 73-79.
- Harjana, T. 2011. *Buku Ajar Histologi*. Universitas Negeri Yogyakarta : Yogyakarta.
- Hobson, R. 2014. Vitamin E and Wound Healing: an Evidence-Based Review. *International Wound Journal*, 2014: 331-335.
- Junqueira, L.C., J. Carneiro, R.O. Kelley. 2007. *Histologi Dasar, Edisi Ke-5*. Penerbit Buku Kedokteran, EGC : Jakarta.
- Kartika, R.W. 2015. *Perawatan Luka Kronis dengan Modern Dressing*. Wound Care or Diabetic Center, 42(7) : 546-550.
- Kalangi, S.J.R. 2013. *Histofisiologi Kulit*. Jurnal Biomedik, 5(3) : 12-20.
- Kolarsick, P.A., A.K. Marla, and G. Carolyn. 2006. *Anatomy and Physiology of the Skin*. Journal of the Dermatology Nurses Association, 3 : 1-11.

- Krinke, G.J. 2000. *The Laboratory Rat*. San Diego, CA : Academic Press. 150-152.
- Krisnawati, D. 2007. *Pengaruh Pemberian Virgin Coconut Oil (VCO) terhadap Jumlah Leukosit Darah Tepi Pada Tikus Wistar Jantan yang Dipapar Staphylococcus aureus* [Skripsi]. Universitas Jember.
- Lamid, A. 1995. *Vitamin E Sebagai Antioksidan*. Media Litbangkes, 5(1) : 14-16.
- Lucida, H., Salman., dan M.S. Hervian. 2008. *Uji Daya Peningkatan Penetrasi Virgin Coconut Oil (VCO) dalam Basis Krim*. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, 13(1).
- Majid, A., dan A.S. Prayogi. 2013. *Buku Pintar : Perawatan Pasien Luka Bakar*. Gosyen Publishing, Yogyakarta.
- Mallon, B., K. Park, K. Chen, R. Hamilton, and R. McKay. 2006. Toward Xeno-free culture of human embryonic stem cells. *Int j biochem Cell*, 38: 1063–1075.
- Maula, I.F. 2014. *Uji Antifertilitas Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley Secara In Vivo* [Skripsi]. Jakarta : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Masjoer, A. 1999. *Kapita Selekta Kedokteran*. Media Aesculapius : Jakarta.
- MIMS. 2016. Referensi Obat, Informasi Ringkas Produk Obat. Buana Ilmu Populer : Jakarta.
- Moenadjat, Y. 2003. *Luka Bakar : Pengetahuan Klinik Praktis*, Edisi Kedua. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Montgomery, D., and S. Kowalsky. 2011. *Design and Analysis of Experiment*. John Willey and Sains Inc. ISBN 978-0-470-16990-2
- Morwal, S. 2016. *Clinico-therapeutic Managenent of First & Second Degree Burn in Cattle & Buffaloes*. *Inter J Vet Sci*, 5(4) : 302-303.
- Munasir, Z. 2001. *Respon Imun terhadap Infeksi Bakteri*. *Sari Pediatri*, 2(4) : 193-197.
- Negara, R.F., R. Ratnawati, dan D. Dewi. 2014. *Pengaruh Perawatan Luka Bakar Derajat II Menggunakan Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper betle Linn.) terhadap Peningkatan Ketebalan Jaringan Granulasi pada Tikus Putih (Rattus novergicus) Jantan Galur Wistar*. *Majalah Kesehatan FKUB*, 1(2) : 86-94.
- Noer, M.S. 2006. *Penanganan Luka Bakar*. Surabaya : Airlangga University Press.

- Nugroho, T. 2012. Luka Bakar dan Arthritis Reumatoid. Nuha Medika.
- Nurdiana., I. Ulya, dan R.A. Putra. 2016. *Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Daun Melati (Jasminum sambac L. Ait) terhadap Jumlah Fibroblas Kulit dalam Penyembuhan Luka Bakar Derajat II A pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Wistar*. Jurnal Ilmu Keperawatan, 4(1) : 1-11.
- Orgil, D.P. 2009. *Excision and Skin Grafting of Thermal Burn*. New England J, Med. 360 : 893-901.
- Padua, C.A.M., H. Schnuch, J. Lessmann, and A. Geier. 2005. *Contact Allergy to Neomycin Sulfate: Results of a Multifactorial Analysis*. Pharmacoepidemol Grug Saf, 14(10) : 725-733.
- Pasparakis, M., I. Haase, and F.O. Nestle. 2014. *Mechanisms regulating skin immunity and inflammation*. Nature reviews immunology, 14 : 289-301.
- Putri dan Tasminatun. 2012. *Efektivitas Salep Kitosan terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimia pada Rattus norvegicus*. Mutiara medika, 12 (1) : 24-30.
- Pratama, A.R., N. Wathoni, T. Rusdiana. 2017. *Peranan Faktor Pertumbuhan Terhadap Penyembuhan Luka Diabetes*. Farmaka, 15(2) : 43-53.
- Setiaji, B., dan S. Prayugo. 2006. Membuat VCO Berkualitas Tinggi. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Silalahi, J., and C. Surbakti. 2015. *Burn Wound Healing Activity of Hydrolyzed Virgin Coconut Oil*. International Journal of PharmTech Research, 8 (1) : 67-73.
- Sirois, J. 2005. *Laboratory Animal Medicine : Principles and Procedure*. Elsevier, USA.
- Smith, J.B., dan S. Mangkoewidjojo. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Tikus Laboratorium (Rattus norvegicus): 37- 57. UI Press : Jakarta.
- Sumbayak, E.M. 2016. *Fibroblas : Struktur dan Perannya dalam Penyembuhan Luka*. Universitas Kristen Krida Wacana : Jakarta.
- Sutarmanto, E., A. Buang, dan H. Stevani. 2015. *Uji Stabilitas Fisik Sediaan Krim VCO (Virgin coconut oil)*. Media Farmasi, 13 (22) : 135.
- Sutrisno, T., N. Huda, N. Cahaya, dan V.M. Srikartika. 2016. *Efektivitas Gel Kuarsetin pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II A*. Media Pharmaceutica Indonesia, 1(1) : 1-11.
- Syah, N.A. 2005. *Virgin Coconut Oil : Minyak Penakluk Aneka Penyakit*. Agromedia.

- Syamsuhidayat, R., dan W.D. Jong. 2004. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Edisi-2. Jakarta : EGC.
- Tamara, A.H., Y.S. Rochmah, R. Mujayanto. 2014. *Pengaruh Aplikasi Virgin Coconut Oil terhadap Peningkatan Jumlah Fibroblas pada Luka Pasca Pencabutan Gigi pada Rattus novergicus*. ODONTO : Dental Journal, 1 (2) : 29-34.
- Theddeus, O.H.P. 2016. *Panduan Klinis Manajemen Luka*. Penerbit Buku Kedokteran, EGC : Jakarta.
- Warzecha, Z., A. Dembinski, P. Ceranowicz, M. Dembinski, P. Kownacki, S.J. Konturek, R. Tomaszewska, J. Stachura, W. Htadki, and W.W. Pawlik. 2004. *Immunohistochemical Expression of FGF-2, PDGF-A, VEGF and TGF beta RII in The Pancreas in The Course of Ischemia/Reperfusion-Induced Acute Pancreatitis*. Jurnal Physiol Pharmacol, 55(4) : 791-810.
- Wibawani, L., E.S. Wahyuni, dan Y.W. Utami. 2015. *Pengaruh Pemberian Etanol Daun Melati (Jasminum sambac L. Ait) secara Topikal terhadap Peningkatan Kontraksi Luka Bakar Derajat II A pada Tikus Putih (Rattus novegicus) Galur Wistar*. Majalah Kesehatan, 2(4) : 196-206
- Widyastomo., A.K. Wulan, dan P.I. Sari. 2013. *Pengaruh Jus Buah Belimbing Manis (Averrhoa carambola linn.) terhadap Peningkatan Jumlah Fibroblas pada Soker Tikus Strain Wistar Pasca Ekstraksi Gigi*. Majalah Indah Permata.
- Wientarsih, L., B.F. Prasetyo, R. Madyastuti, L.N. Sutardi, dan R.A. Akbari. 2017. *Obat-obatan untuk Hewan Kecil*. IPB Press : Bogor.
- Wijaya, I. 2010. *Pengaruh Pemberian Berbagai Coconut Oil Secara Topikal Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimiawi Pada Kulit Tikus Putih (Rattus novergicus) Terinduksi Asam Sulfat [Skripsi]*. Yogyakarta : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah.
- Yapa, K.S., and S. Enoch. 2009. *Management of Burns in the Community*. Wounds UK, 5(2) : 38-48.
- Yanhendri, dan S.W. Yenny. 2012. *Berbagai Bentuk Sediaan Topikal dalam Dermatologi*. CDK, 36(6) : 423-430.

Lampiran 1. Kerangka Operasional Penelitian



Lampiran 2. Pembuatan Histopatologi Jaringan Kulit

A. Embedding Jaringan

Jaringan kulit dalam formalin 10%

- Direndam dalam etanol 70% selama 24 jam
- Dimasukkan dalam etanol 80% selama 2 jam
- Dimasukkan dalam etanol 90% selama 20 menit
- Dimasukkan dalam etanol 95% selama 20 menit
- Dipindahkan dalam etanol absolut I, II, III selama 20 menit

Jaringan hasil dehidrasi dengan etanol

- Direndam dalam larutan xylol I selama 20 menit
- Dimasukkan dalam larutan xylol II selama 40 menit pada suhu 60°C-63°C
- Dichelupkan dalam parafin cair hingga memadat
- Embedding pada blok parafin

Jaringan dalam blok parafin

B. Pembuatan Preparat Jaringan

Jaringan dalam blok parafin

- Dipotong seukuran 4-5µm
- Dimasukkan dalam air dengan suhu 38-40°C
- Diambil dengan objek glass
- Dikeringkan di atas hot plate dengan suhu 38-40°C
- Diinkubasi pada suhu 38-40°C selama 24 jam

Preparat disimpan dalam ruang

C. Pewarnaan *Hematoxylen Eosin*

Preparat disimpan dalam ruang

- Dideparafinasi dengan xylol I dan II selama 5 menit
- Dimasukkan dalam etanol absolut selama 5 menit (3 kali)
- Dimasukkan dalam etanol bertingkat (95%, 90%, 80%, 70%) selama 5 menit lalu dicuci dengan air mengalir 15 menit kemudian direndam akuades 5 menit (rehidrasi)
- Diwarnai dengan *Hematoxylen* selama 10 menit atau hingga didapat hasil terbaik
- Dicuci dalam air mengalir 15 menit
- Direndam akuades 5 menit
- Diwarnai dengan eosin selama 5 menit
- Dicuci dengan akuades mengalir 5 menit
- Dimasukkan dalam alkohol bertingkat (70%, 80%, 90% dan 95%) dan etanol absolt I, II, III selama 5 menit
- Dimasukkan dalam xylol I dan II selama 5 menit
- *Mounting* menggunakan entellan
- Ditutup dengan cover glass

Preparat HE

Lampiran 3. Metode Immunohistokimia untuk Ekspresi *Fibroblast Growth*

Factor-2 (FGF-2)

Preparat kulit

- Dicuci xylol I dan II, alkohol bertingkat (100%, 90%, 80%, 70%), akuades
- Dicuci PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali
- Ditetesi dengan H₂O₂ selama 20 menit pada suhu ruang
- Dicuci PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali
- Diinkubasi dengan antibodi primer anti mouse FGF-2 selama 1 jam dengan suhu ruang
- Dicuci PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali
- Ditetesi antibodi sekunder selama 1 jam pada suhu ruang
- Dicuci PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali
- Ditetesi SA-HRP 40 menit suhu ruang
- Dicuci PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali
- Ditetesi *Chromogen* DAB 10 menit suhu ruang
- Dicuci PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali
- Dilakukan *Counterstain (Hematoxylen)* 10 menit
- Dicuci dengan air mengalir
- Dilakukan *Mounting* dan ditutup dengan *cover glass*
- Diamati dibawah mikroskop

Preparat IHK

Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi Salep VCO

Penelitian yang telah dilakukan Silalahi dan Surbakti (2015), menunjukkan bahwa diantara konsentrasi VCO 0%, 35%, dan 70% menunjukkan bahwa konsentrasi 70% memiliki aktivitas penyembuhan paling baik terhadap luka bakar, sehingga pada penelitian ini penulis menggunakan konsentrasi VCO 70% pada sediaan salep yang akan digunakan dalam terapi luka bakar derajat II B.

1. Total salep yang dibutuhkan dalam setiap kelompok perlakuan (dosis topikal $\pm 0,1$ gram):

$0,1 \text{ g} \times 2 \text{ (pagi dan sore)} \times 7 \text{ (lama terapi)} \times 9 \text{ (jumlah tikus pada setiap kelompok perlakuan)} = 12,6 \text{ gram} \rightarrow \text{dibulatkan menjadi } 13 \text{ gram}$

2. Jumlah VCO yang diperlukan untuk konsentrasi 70%

$$\text{Jumlah VCO} = \frac{70 \times 13 \text{ gram}}{100} = 9,1 \text{ gram}$$

3. Jumlah basis salep (adeps lanae) yang diperlukan = $13 - 9,1 = 3,9 \text{ gram}$

Jadi, untuk membuat salep VCO sebanyak 13 gram dibutuhkan 9,1 gram VCO, dan 3,9 gram adeps lanae.

Lampiran 5. Perhitungan Volume Ketamin HCl 10% dan Xylazine 2%

Menurut Elka *et al.*, (2011), adapun Perhitungan Volume Ketamin HCl 10% dan Xylazine 2% antara lain:

A. Volume Ketamin HCl 10%

Dosis Ketamin HCl 10% per IM = 87 mg/kgBB

Berat badan tikus = 200 gram = 0,2 gram

Konsentrasi ketamin HCl 10% = 100 mg/ml

$$\text{Volume} = \frac{\text{dosis obat} \times \text{berat badan}}{\text{konsentrasi obat}} = \frac{87 \times 0,2}{100} = 0,174 \text{ ml}$$

B. Volume Xylazine 2%

Dosis Xylazine 2% per IM = 5 mg/kgBB

Berat badan tikus = 200 gram = 0,2 gram

Konsentrasi Xylazine 2% = 20 mg/ml

$$\text{Volume} = \frac{\text{dosis obat} \times \text{berat badan}}{\text{konsentrasi obat}} = \frac{5 \times 0,2}{20} = 0,05 \text{ ml}$$

Lampiran 6. Analisis Ekspresi FGF-2

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ekspresi FGF2 dalam satuan %	VCO	.210	9	.200 [*]	.856	9	.087
	Ekstrak Plasenta	.145	9	.200 [*]	.939	9	.568

Data terdistribusi normal karena nilai sig > 0.05

2. Uji t Independen

Group Statistics

	Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ekspresi FGF2 dalam satuan %	VCO	9	93.3067	6.83445	2.27815
	Ekstrak Plasenta	9	90.8873	5.62060	1.87353

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Upper	Lower
Ekspresi FGF-2	Equal variances assumed	.146	.707	.820	16	.424	2.41933	2.94959	3.83352	8.67219
	Equal variances not assumed			.820	15.425	.425	2.41933	2.94959	3.85252	8.69119

Kedua kelompok perlakuan tidak memiliki perbedaan efek yang signifikan karena sig (2 tailed) > 0.05

Lampiran 7. Analisis Jumlah Fibroblas

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Fibroblas	VCO	.284	9	.035	.835	9	.051
	Ekstrak Plasenta	.185	9	.200*	.933	9	.514

Data terdistribusi normal karena nilai sig > 0.05

2. Uji t Independen

Group Statistics


	Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah Fibroblas	VCO	9	23.8444	11.86498	3.95499
	Ekstrak Plasenta	9	23.2889	4.70118	1.56706

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Upper	Lower
Jumlah Fibroblas	Equal variances assumed	.861	.367	.131	16	.898	.55556	4.25413	9.57392	-8.46281
	Equal variances not assumed			.131	10.451	.899	.55556	4.25413	9.97915	-8.86804

Kedua kelompok perlakuan tidak memiliki perbedaan efek yang signifikan karena sig (2 tailed) > 0.05

Lampiran 8. Sertifikat Laik Etik Penelitian



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
“ETHICAL CLEARENCE”**

No: 867-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**




**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL	PERBEDAAN EFEK TERAPI SALEP VCO (VIRGIN COCONUT OIL) DENGAN EKSTRAK PLASENTA TERHADAP LUKA BAKAR DERAJAT II B PADA TIKUS PUTIH (<i>Rattus norvegicus</i>) BERDASARKAN EKSPRESI FGF-2 DAN JUMLAH FIBROBLAS
PENELITI	: FATHUNNISA
UNIT/LEMBAGA/TEMPAT	: UNIVERSITAS BRAWIJAYA
DINYATAKAN	: LAIK ETIK

Malang, 17 Januari 2018
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya


Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

Gambar	Keterangan
	Pembuatan luka bakar derajat II B
	Pemberian terapi salep VCO
	Pemberian terapi gel ekstrak plasenta



Isolasi sampel kulit tikus

